

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, PARASITOLOGÍA
BÁSICA Y APLICADA**

**Evaluación de la efectividad del uso de luz UV en los
tanques de Moromi en el proceso de fermentación de
sillao**

Tesis

para optar al título profesional de Químico Farmacéutico

AUTORA

Geraldine Patricia Loayza Juárez

ASESORA

Mirtha Roque Alcarraz

Lima-Perú

2009

DEDICATORIA:

A mis padres por su enorme paciencia y apoyo

A Dios por que sin su protección no hubiese llegado hasta aquí

A mis hermanos que son inspiración y compromiso

A mis maestros que me guiaron por el camino del conocimiento

A mis amigos por no dejar de creer en mí

AGRADECIMIENTOS

Mg. Mirtha Roque Alcarraz, por la asesoría y el apoyo impartido en el desarrollo de la presente tesis

Mg. María Elena Salazar por su apoyo y consejos en la elaboración de la tesis

AJINOMOTO DEL PERU S.A. por el apoyo en el desarrollo del presente trabajo

Julio Ruiz por su apoyo y el aliento para finalizar mi trabajo

INDICE

RESUMEN

SUMMARY

INTRODUCCION

. MARCO TEORICO

1. RADIACION ULTRAVIOLETA

1.1 Factores que afectan la desinfección eficaz de la radiación UV

1.2 Mutaciones

1.3 Radiación como agente mutágeno

1.4 Mecanismos de reparación o mutación reversible

2. PROCESO DE FERMENTACION DEL SILLAO

2.1 Descripción del producto

2.2 Determinación del uso al que ha de destinarse

2.3 Diagrama de flujo de elaboración del Sillao

2.4 Situación actual de las condiciones de los fluorescentes UV
ubicados en planta

II. MATERIALES Y METODOS

2.1 Materiales y Equipos

2.2 Método

2.3 Validación de la prueba con una muestra patrón

2.4 Determinación de las condiciones de uso

III. RESULTADOS

IV. DISCUSIÓN

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

VI. BIBLIOGRAFÍA

VII. ANEXOS

RESUMEN

En el proceso de producción del sillao, para hacer posible que el proceso de fermentación se lleve a cabo de una manera adecuada, es necesario que la materia prima se encuentre en tanques descubiertos hasta por 4 meses, por lo que existe la probabilidad de que se contaminen con bacterias ambientales y el proceso de fermentación sea interrumpido, para evitar esto se utilizan lámparas luz UV. El uso de las lámparas de luz Ultravioleta en la Planta de producción de sillao es de 16 horas durante el segundo y tercer turno únicamente, en el primer turno la luz UV se apaga por efecto de las operaciones del personal. Se viene utilizando fluorescentes de luz Ultravioleta de tamaño estándar para control germicida, de 45cm de largo aprox., con el fin de controlar, la influencia de las bacterias ambientales sobre la fermentación del Moromi que se lleva a cabo en tanques y sin agitación; dichos fluorescentes se encuentran ubicados sobre los tanques de fermentación que tienen entre 1.5m (tanques de 4Kl) y 2.20m (tanques de 8Kl) de diámetro y que a su vez son cubiertos con una redcilla que evita el ingreso de insectos pequeños mas no el ingreso de bacterias y/o esporas ambientales que puedan afectar el proceso de fermentación ya sea retardándolo, deteniéndolo o desviándolo

Cabe resaltar que la dosis de luz ultravioleta se mide: en función a la Intensidad y el tiempo de exposición ($\text{Dosis} = \text{Intensidad de luz UV} \times \text{Tiempo de exposición}$). La mayoría de virus, bacterias y levaduras requieren un nivel relativamente bajo de energía UV para ser destruidos, normalmente 10000 micro vatios -segundos por centímetro cuadrado (mw-seg/cm²) o menos.

El uso de las lámparas de luz ultravioleta con fines germicidas, sustenta su eficacia en las condiciones de distancia , tiempo de exposición y el tiempo de vida media de las lámparas, por lo que se ha planteado una reducción de la carga bacteriana ambiental del 90% respecto a la carga total, por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar las condiciones de uso de las lámparas UV en la Planta de producción de Sillao, determinando la altura , el tiempo de exposición y el tiempo de vida media, con la finalidad de maximizar el efecto germicida de la luz ultravioleta para lo cual se diseñó una prueba que repita, a nivel piloto, las condiciones de uso de las lámparas UV en planta, exponiendo una muestra consistente

de las bacterias que se encuentran en la superficie de los tanques de Moroni, a diferentes tiempos, alturas y haciendo las mediciones de viabilidad de la radiación para estimar la vida media optima . Las condiciones de trabajo con las que se trabajo fueron:

Exponer la solución patrón a luz UV a una altura vertical de 10cm, 25cm y 50cm a una distancia horizontal de 1m y 2m (10cm, 25cm y 50cm vertical por cada distancia horizontal en el caso de la prueba de efectividad a distancia Se trabajara en las mismas condiciones pero con lámparas UV de tres y cuatro meses de antigüedad para el caso de la prueba de la efectividad en el tiempo

Al finalizar la prueba se obtuvo las condiciones de uso recomendadas en la planta de producción (una distancia no mayor de dos metros y un tiempo de vida útil de la lámpara UV de no mas de tres meses) y los resultados del cambio de condiciones de uso de las lámparas ultravioleta en la planta de producción a fin de que se obtenga una reducción de la carga microbiana en el 90% sobre la superficie de los tanques de Moromi.

SUMMARY

In the process of production of soy sauce, to enable the process of fermentation takes place in an appropriate manner, it is necessary that the raw material is discovered in tanks up to 4 months, so there is likely to be contaminated with environmental bacteria and the fermentation process is interrupted, to prevent this UV lamps are used. Ultraviolet Light (UV) is used at the soy sauce production plant for sixteen hours (only during the second and third shifts). During the first shift, UV light is off due to personnel operations).

Standard ultraviolet light fluorescent bulbs are being used to prevent the influence of environmental bacteria during the fermentation process of Moromi, which takes place in tanks and without stirring. The fluorescent bulbs are located over the fermentation tanks, which can have a diameter of 1.5m (4kl) or 2.2m (8kl) and are covered with a net which prevents little insects from falling into tanks. However, this net can not protect the tanks from environmental bacteria or spores which may alter stop or modify the fermentation process.

The ultraviolet light dose is a function of its intensity and the exposure time (dose = UV light intensity x exposure time). Most of the viruses, bacteria and yeasts are destroyed with a relatively low level of energy (usually 10000 microwatts-sec/cm²) and the dosages for the most common microorganisms are well-known. On the other hand, spores, fungi and protozoan require higher levels of energy to be eliminated.

The efficiency of ultraviolet light lamps is determined by conditions such as distance of the lamp, the exposure time and average life span of the lamps. As a result a 90% decrease in the environmental bacteria load has been proposed. The objective of this work is to set the conditions of the use of ultraviolet light lamps in the soy sauce production plant, by determining the height and exposure time, in order to maximize the germicide properties of the light. In order to achieve this, a test was designed, in which all the conditions can be tested in different heights and times. The conditions in the test were:

Exposing the standard solution to UV light to a vertical height of 10cm, 25cm and 50cm at a horizontal distance of 1m and 2m (10cm, 25cm and 50cm vertical per horizontal distance in the case of proof of effectiveness over worked on the same conditions but with a3 or 4 month old UV lamp in the case of proof of effectiveness over time

At the end of the test the conditions of use recommended in the plant were obtained (a distance of no more than two meters and a useful lifetime of the UV lamp of not more than three months) and the results of the change of conditions of use of UV lamps in such plant so as to obtain a reduction of microbial load in 90% of the Moromi's tank surface

INTRODUCCIÓN

El proceso natural de desinfección con luz UV proveniente de la luz del sol se puede utilizar de manera más eficaz aplicando dicha radiación de manera controlada. La luz UV es muy utilizada en la industria de purificación de aguas debido a su efecto germicida, las lámparas UV que se emplean son de un tipo especial; estas son diseñadas para permitir que la interacción de la luz UV con la superficie a desinfectar sea de una manera uniforme.

Actualmente en la Planta productora de sillao se viene utilizando dispositivos con luz UV a fin de evitar el incremento de la carga microbiana en la superficie de contacto entre el producto (Moromi en fermentación) y el medio ambiente, el posible incremento en la carga microbiana perjudicaría el proceso de Fermentación (fermentación a cargo del *Aspergillus oryzae* que utiliza como sustratos Soya y Trigo que se realiza previa a la producción de sillao.

Se debe evaluar la efectividad y el mejoramiento del uso de luz UV mediante una prueba validando la misma y determinando las condiciones más adecuadas de uso para maximizar el efecto germicida y así mismo ahorrar recursos.

Con respecto a la validación que se llevará a cabo es necesario aclarar que, básicamente, se trata de un proceso de verificación y comprobación no teniendo un proceso de tratamiento estadístico previo de los datos en éste paso. La necesidad de realizar esta validación surge debido a que en una auditoria HACCP realizada a la Planta productora de sillao se resaltó como sugerencia para el área de Producción II-sillao que se debe evaluar la efectividad del uso de la luz UV para dichos fines.

I.- MARCO TEORICO

Entre el conjunto de radiaciones potencialmente utilizables para su aplicación en los alimentos, es necesario distinguir dos categorías diferentes de radiaciones. La primera, es la radiación de frecuencia relativamente baja y de longitud de onda más larga que la luz visible (de 10^7 a 10^{10} Hz, es decir los van desde la onda corta de radio hasta los infrarrojos de 10^{12} a 10^{14} Hz) las que poseen un bajo poder energético y por lo general su acción sobre las moléculas produce frotamiento con elevación de temperatura y, de acuerdo a varias investigaciones realizadas, su acción sobre los microorganismos es debido a dicho calentamiento. En la segunda categoría están las radiaciones de longitud de onda más corta que la luz visible, con aproximadamente 10^{15} Hz o más, las cuales poseen el suficiente poder energético para excitar o modificar las moléculas orgánicas y por tanto son capaces de desarrollar una acción letal específica (aquí se destacan las radiaciones de más baja frecuencia energética, en la zona ultravioleta del espectro que sólo son capaces de excitar a las moléculas y son las ondas de interés en el presente trabajo); existen otras de más alta frecuencia, desde 10^{18} Hz y más que tienen suficiente energía para romper las moléculas en partes con cargas distintas llamadas iones y a estas radiaciones se le llama “ionizantes” tales como la radiación gamma o beta. (1).

La radiación UV desinfecta alterando el componente ADN de los microorganismos e impidiendo su reproducción, por tanto es un medio no-químico que inactiva bacterias, esporas, protozoos, levaduras y virus; esta afectación del ADN de los microorganismos se lleva a cabo de muchas maneras pero una acción bien establecida es la formación de dímeros de timina, un estado en el que dos moléculas de timina adyacentes se unen químicamente, de forma que la replicación del ADN no puede llevarse a cabo; es decir provoca una mutación en los microorganismos expuestos; sin embargo, dicho estado de mutación muchas veces no es irreversible debido a la acción de ciertos mecanismos de reparación de la cadena de ADN que actúan de tal manera que se puede eliminar en el ADN daños potencialmente letales eliminando así las lesiones potencialmente mutagénicas antes que puedan convertirse en mutaciones finales (ver más adelante 1.3, 1.4 y 1.5). (2).

1.- Radiación Ultravioleta.-

Es la radiación electromagnética o energía radiante que se transmite en función de su longitud de onda. Esta forma de energía viaja en todas las direcciones a partir de su fuente emisora. A partir de ésta explicación se puede definir a la radiación ultravioleta como una cantidad de energía transportada por un haz de luz con una frecuencia y longitud de onda determinada, para el caso de la luz ultravioleta la longitud de onda definida germicida corresponde a 254nm, la cual será absorbida a un nivel que será suficiente para originar un cambio físico en los electrones y ruptura de ataduras en el ADN previniendo su reproducción; al no poderse reproducir el microorganismo queda eliminado.

Por lo tanto, radiación ultravioleta es un proceso físico definido por la transferencia de energía electromagnética de una fuente generadora al material genético celular de un organismo contenido en un líquido o aire. Las longitudes de onda específicas responsables de esta reacción se sitúan entre 240 - 280 nanómetros (designados como nm en la figura) con una longitud de onda máxima de 265 nm. y se conocen como Uv-c

Fig.(1) muestra: Uv-c en el espectro de la radiación electromagnética (2)

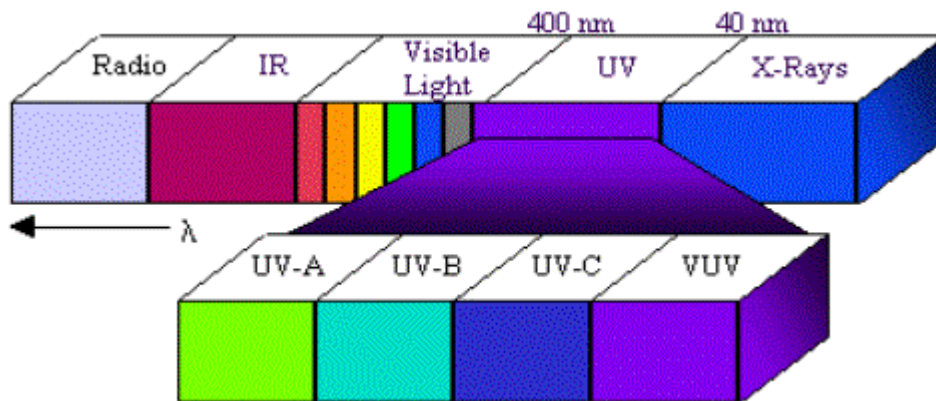


Fig Tomada de: <http://www.lenntech.es/uv-informacion.htm#system>

1.1.- Factores que afectan la desinfección eficaz de la radiación UV.-

- Transmisión de luz UV
- Sólidos suspendidos
- Nivel de residuos orgánicos disueltos
- Tiempo de uso de la lámpara
- Condición de la lámpara

Estos factores, a los cuales se les pueden agregar otros más que están en función a la naturaleza de la muestra, están relacionados principalmente con la exposición de los contaminantes en la sustancia a desinfectar y la transmisión eficiente de luz UV para una inactivación adecuada.

1.2.- Mutaciones.-

La mutación es un cambio hereditario en la secuencia de bases del ácido nucleico que constituye el genoma de un organismo; pudiendo originar desde un pequeño cambio genético en la célula hasta su inactivación, y por consecuencia su eliminación. Debido a que una mutación es un cambio hereditario en la secuencia de bases del ácido nucleico genómico de un organismo, una cepa que lleva este tipo de cambio se le denomina mutante. Por definición un mutante difiere de su cepa parental en el genotipo, es decir, en el conjunto de genes del organismo. Pero, además su fenotipo, también puede estar alterado en relación a la cepa parental; en la mayoría de las ocasiones estos cambios son perjudiciales o neutros, pero a veces pueden ocurrir cambios que son beneficiosos.

Las mutaciones pueden ser espontáneas o inducidas, las mutaciones espontáneas pueden surgir como consecuencia de la radiación natural que altera la estructura de las bases del ADN; y pueden ocurrir durante la replicación, como resultado de errores de apareamiento de las bases, originando cambios en el ADN replicado. (3).

La frecuencia de las mutaciones espontáneas es muy baja, pero hay una variedad de agentes químicos, físicos y biológicos que pueden incrementar la velocidad de mutación; a estos

agentes se les conoce como mutágenos. Existen diversos tipos de mutágenos que actúan sobre las células bacterianas pero son las mutaciones inducidas por radiaciones y sobre todo las radiaciones no ionizantes (luz ultravioleta) las que son de interés para el presente trabajo.

1.3.- Radiación como agente mutágeno.-

Varias formas de radiación son altamente mutagénicas, pudiéndose dividir en dos categorías principales, ionizantes y no ionizantes (electromagnéticas). Aunque ambos tipos de radiación se utilizan en genética microbiana, las radiaciones no ionizantes se utilizan más.

La radiación ionizante es una forma de radiación más potente e incluye rayos de longitud de onda corta, tales como los rayos X, rayos cósmicos y rayos gamma. Estas radiaciones causan la ionización del agua y otras sustancias, los efectos mutagénicos se producen indirectamente a causa de esta ionización. Entre las potentes especies químicas formadas por la radiación ionizante están los radicales libres, de los cuales el más importante es el radical hidroxilo OH⁻. Los radicales libres reaccionan e inactivan las macromoléculas celulares, siendo la más importante el ADN (3). Con toda seguridad el ADN no es más sensible que otras moléculas a la radiación ionizante, pero dado que el ADN es material genético, los cambios inducidos en él tienen un efecto permanente. A bajas dosis de radiación ionizante, solo ocurren unos pocos impactos en el ADN, pero a altas dosis ocurren impactos múltiples que conducen a la muerte de las células. Al contrario de la radiación UV, la radiación ionizante penetra fácilmente el vidrio y otros materiales. Por esta razón la radiación ionizante se usa con frecuencia para inducir mutaciones en plantas y animales (donde su poder de penetración hace posible alcanzar con facilidad las células germinales de estos organismos). Debido a que es más peligrosa de utilizar y está menos disponible se utiliza menos en microorganismos (donde la penetración de radiación UV no es un problema.)

En cuanto a las radiaciones no ionizantes nos ocuparemos exclusivamente de las radiaciones de luz UV pues se sabe que las bases puricas y pirimídicas de los ácidos nucleicos absorben intensamente radiación ultravioleta (UV), y el máximo de absorción para el ADN y el ARN es a 260nm; mientras que las proteínas también adsorben radiación pero

hasta un rango de 280nm por acción de los aminoácidos aromáticos como el triptófano, fenilalanina y la tirosina. Está bien establecido que la muerte de células por radiación UV es debida, principalmente, a su acción sobre el ADN, de manera que la radiación de 260nm es la más efectiva como agente letal. Aunque se conocen varios efectos sobre las células bacterianas como transiciones de GC---AT, transversiones, mutaciones por cambio de lectura (2), uno de los mecanismos bien establecido es la inducción de dímeros de pirimidina en el ADN, en un estado en el que dos bases pirimídicas adyacentes (citosina o timina) se unen covalentemente, lo que da lugar al entrecruzamiento, de manera que se incrementa en gran medida la probabilidad de que durante la replicación del ADN, la ADN polimerasa inserte un nucleótido incorrecto en determinada posición. (3).

El tipo más frecuente de fuente de radiación UV que se usa en mutagénesis es la lámpara microbicida, la cual emite grandes dosis de radiación UV en la región de 260nm. Suele utilizarse una dosis de radiación UV que produce un 90-95% de muerte en la población; de acuerdo a la dosis de radiación el número de células supervivientes es bajo o se podría inducir a daños insuficientes en el ADN.

1.4.- Mecanismos de Reparación o Mutación reversible.-

Se ha dejado claro que la dosis de radiación recibida por el microorganismo es fundamental para determinar un tipo de mutación final que conlleve a la muerte de dicho microorganismo ya que las células tienen como mecanismo de defensa a las mutaciones una serie de mecanismos de reparación.

La formación de mutantes es un proceso complejo. Las lesiones premutacionales del ADN suceden espontáneamente o a través de un agente mutagénico; solamente parte de ello da lugar a la formación de mutantes estables durante la replicación subsecuente. En el ADN se producen cambios estructurales como la formación de dímeros de pirimidina en los que dos pirimidinas adyacentes sobre una cadena de ADN se acoplan mediante enlaces covalentes y por tanto pierden su capacidad de aparear; cambios químicos de bases únicas tales como alquilaciones, deaminaciones, que causan cambios en las propiedades de apareamiento del ADN; entrecruzamientos de las cadenas complementarias del ADN que impiden su

separación durante la replicación; intercalamiento de agentes mutagénicos en el ADN que causa mutaciones por desplazamiento de lectura; rupturas de cadenas sencillas; rupturas de la doble cadena (2).

Estos cambios estructurales premutacionales pueden conducir directamente a mutaciones al producir errores en el apareamiento durante la replicación o indirectamente por recombinación incorrecta durante la siguiente onda de replicación del ADN. Los sistemas de reparación juegan un papel significativo en el proceso de mutación, pudiendo eliminar las lesiones potencialmente mutagénicas antes que puedan ser convertidas en mutaciones finales; existen diversos tipos de mecanismos de reparación, sin embargo nos ocuparemos de los que neutralizan a la mutación (y consecuente inactivación bacteriana) inducida por la luz ultravioleta:

- a) Fotorreactivación.- La irradiación con luz ultravioleta de longitud de onda corta (254nm) afecta al ADN mediante la formación de dímeros de timina; cuando tales poblaciones bacterianas irradiadas con luz ultravioleta son expuestas subsecuentemente a la luz visible de una longitud de 300nm a 450nm, la velocidad de supervivencia aumenta y la frecuencia de mutación descende. Esto se debe a la activación de una enzima de fotorreactivación que corta los dímeros de timina en la oscuridad (hasta un 80% de los dímeros de timina que existen en el genoma pueden ser cortados por esta enzima) (3). Los entrecruzamientos del ADN inducidos por la luz ultravioleta pueden ser fotoreactivados y dado que este sistema funciona a prueba de errores no permite que se formen mutaciones.
- b) Escisión y reparación.- En contraste con la fotorreactivación, que es posible con ADN monocatenario, para que éste mecanismo de reparación se lleve a cabo se requiere la cadena complementaria. Existen diversos tipos de escisión reparación de acuerdo al agente mutagénico por lo que en el presente trabajo nos dedicaremos a aquel que se aplica debido a la acción de la luz ultravioleta. En una reacción en la oscuridad, los daños al ADN como los dímeros de pirimidinas inducidos por la luz ultravioleta son reconocidos por endonucleasas específicas donde primero tiene lugar

la escisión de nucleótidos. En efecto, los nucleótidos defectivos son cortados y reemplazados.

Para que opere este mecanismo no se requiere el proceso normal de replicación del ADN. (2). En algunas bacterias se ha demostrado la presencia de una endonucleasa dependiente de ATP. Esta endonucleasa esta controlada por tres genes (*uvrA*, *uvrB* y *uvrC*); la endonucleasa corta un fosfodiéster en el extremo 5' del dímero de pirimidina y produce extremos 3' hidroxilo y 5' fosforilado, con la ayuda de una 5' exonucleasa y de la ADN polimerasa I, se corta un oligonucleótido de 7 nucleótidos de longitud junto con el dímero, y el orificio resultante se expande hasta aproximadamente 30 nucleótidos; los nucleótidos perdidos son rellenados por la ADN polimerasa I comenzando desde el extremo 3' y son conectados por una polinucleótido ligasa. Este mecanismo de reparación está casi libre de error y de esa forma se evita la mutación. Otro mecanismo para la reparación del daño de la luz ultravioleta se denomina reparación dependiente de *recA*; esta segunda vía de reparación requiere de la replicación del ADN y parece ser mutagénica ya que corta grandes fragmentos de hasta 1500 nucleótidos y para que funcione este mecanismo es necesaria la función de los genes *recA*, *recB*, *recC*, *lexA*, *uvrD* y *polC*. (2).

2.- PROCESO DE FERMENTACION DEL SILLAO

2.1. Descripción del producto

2.1.1 Nombre genérico : SILLAO, SALSA DE SOYA

2.1.2 Materias primas : torta de soya
Trigo

Insumos : sal industrial
Azúcar refinada industrial
Color caramelo grado alimenticio

Glutamato monosódico 99,9%
Benzoato de sodio grado alimenticio
Hidróxido de sodio grado alimenticio
Agua tratada

2.1.3 Especificaciones técnicas de Producto

❖ Nitrógeno total	0.75 ~ 0.85 g/dl
❖ Cloruro de sodio	16.0 ~ 18.0 g/dl
❖ Color – log T	0.9 ~ 1.6 (532 ~ 562 nm)
❖ pH	4.6 ~ 4.8
❖ Arsénico	No más de 1 ppm
❖ Plomo	No más de 10 ppm
❖ Control microbiológico	
Recuento total de aerobios	$\leq 10^4$ ufc/ml
Coliformes	Ausencia
Mohos y levaduras	$\leq 10^2$ ufc/ml

2.1.4 Envase

Es envasado en sobres bilaminados de BOPP + PEBD, en frascos de PVC y bidones de PET

2.1.5 Durabilidad

La empresa garantiza una duración mínima de 24 meses en las presentaciones de frasco y bidón y de 12 meses en la presentación en sobre.

En cuanto a condiciones de almacenamiento el producto se debe conservar en lugar fresco y seco.

2.1.6 Presentación

Sobre de 30 ml; Frascos de 80, 150, 350 y 500 ml: Bidón d 5 L

2.1.7 Registro Sanitario

Con registro sanitario.

2.2. Determinación del uso al que ha de destinarse

El uso del SILLAO se efectúa en forma Directa e Indirecta. Como enaltecedor del sabor de los alimentos a los que es añadido, debido al contenido de aminoácidos del producto. Es un producto destinado al público en general.

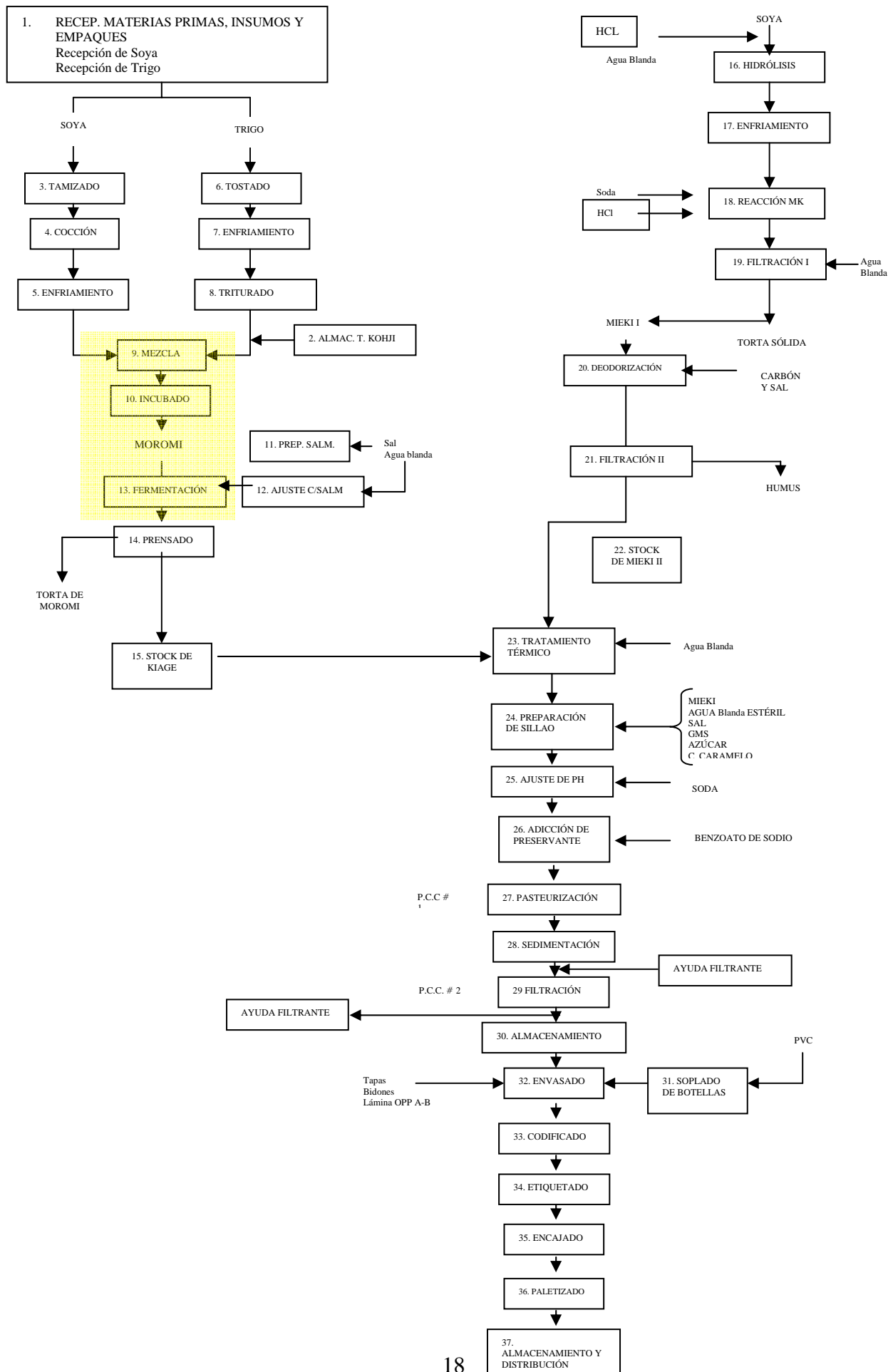
Directamente: Adicionado a todo tipo de alimentos ya preparados, en la etapa o proceso de preparación, pudiendo ser usado en frío o en caliente de acuerdo al tipo de alimento a preparar.

Indirectamente: Como constituyente básico en la elaboración de algunos platos.

SILLAO, es una salsa natural elaborada a base de soya y trigo con la que se pueden preparar no sólo comidas orientales, sino también comidas criollas, internacionales y muchos platos más, como enaltecedor del sabor. Usarlo al gusto en la preparación de sus comidas o agregarlo directamente a sus platos.

2.3 Diagrama de flujo de la elaboración del sillao.-

El presente Esquema refleja la metodología empleada para elaborar el sillao (proceso fermentativo realizado por hongos tipo *A. orizae*) y señala como uno de los puntos críticos la preparación de Kiage (principal componente del sillao y el único que es sometido al proceso de fermentación), en éste se observa, además, que el proceso de fermentación del Moromi es el proceso más influyente por lo que surge la necesidad de controlar eficazmente la contaminación microbiana en dicho paso. (Ver Diagrama 1 de Flujo de elaboración de sillao)



2.4.- Situación actual de las condiciones de los fluorescentes UV ubicados en planta

En la planta de producción de sillao se vienen utilizando fluorescentes de luz UV de tamaño estándar (45cm aprox.) con el fin de neutralizar, en lo posible, la influencia de las bacterias ambientales sobre la fermentación del Moromi que se lleva a cabo en dichos tanques y que se realiza sin agitación; dichos fluorescentes se encuentran ubicados sobre tanques de fermentación del Moromi que tienen entre 1.5m (tanques de 4Kl) y 2.20m (tanques de 8Kl) de diámetro y que a su vez son cubiertos con una redecilla que evita el ingreso de insectos pequeños mas no el ingreso de bacterias y/o esporas ambientales.

La distancia que existe entre los tanques y cada fluorescente es como sigue:

TANQUE código	DISTANCIA cm
S209	20
S207	30
S210	20
S226	20
S227	30
S228	30
S229	22 ()
S230	27 ()
S231	27 ()
S232	-----()
S214	33
S213	33
S212	-----
S211	15, 43*

TANQUE código	DISTANCIA cm
S223	8
S224	20
S205	39
S206	42
S215	38
S220	40
S216	50
S221	30
S222	30
S217	40
S218	47
S219	44
S204	48
S203	45

* : Dos fluorescentes Uv en el tanque.
() : Tanque vacío

Total: 28 tanques

- 2 sin Irradiación Uv
- 1 con 8cm de distancia del fluorescente
- 1 con 15cm de distancia del fluorescente
- 5 con un rango de entre 20cm y 23cm
- 9 con un rango de entre 27cm y 33cm
- 7 con un rango de entre 38cm y 45cm
- 3 con un rango de entre 47cm y 50cm

Observándose que no existe uniformidad entre la colocación de los fluorescentes de luz ultravioleta y los tanques de Moromi, además se observa que la mayoría se encuentra en una distancia de aproximadamente 30cm o en un rango de entre 20cm y 40cm.

El tiempo de vida o tiempo de uso de los fluorescentes es el tiempo de duración de los mismos (se les cambia en cuanto se deterioran) no existiendo un criterio de cambio de fluorescente de acuerdo al tiempo de uso.

Es importante señalar la distancia y el tiempo de vida útil que se les da a los fluorescentes de luz ultravioleta ya que el presente trabajo se realiza con el fin de determinar las mejores condiciones de uso de las lámparas de luz ultravioleta para maximizar su efecto germicida sobre las bacterias ambientales que pueden interferir con el proceso de fermentación del Moromi y, a su vez, con la elaboración del sillao.

II.- MATERIALES Y METODOS)

2.1.- Materiales y Equipos

- 1.- Agar TSA (Agar Trypticase Soya)
- 2.- Placas Petri descartables
- 3.- Peptona Universal (Merck)
- 4.- Micropipeta de 0.1 a 1ml
- 5.- Puntas para micropipeta
- 6.- Espátula de Digrafski
- 7.- Tubos de ensayo 13x10
- 8.- Agua destilada
- 9.- Matrices de 200ml
- 10.- Incubadora a $35 \pm 1^{\circ}\text{C}$. Marca Hirma
- 11.- Cámara de Inoculación
- 12.- Refrigeradora

2.2.- Método.-

La metodología de trabajo ha sido diseñada especialmente para la presente prueba teniendo como base la norma internacional para recuento de aerobios mesófilos viables, y plaqueo de ambientes (4).

El método empleado es resultado del acondicionamiento de los requerimientos de la prueba y la simulación de las condiciones de trabajo de la planta de producción de sillao

(elaboración a nivel piloto de tanques de Moromi pero con una concentración conocida de bacterias ambientales denominada muestra patrón).

2.3.- Comprobación de la eficacia germicida de las lámparas UV con una muestra patrón

Se realizó la comprobación de la eficacia germicida de la luz ultravioleta en los fluorescentes que se utilizan en la Planta de producción de Sillao sea la señalada por los proveedores además de fijar las condiciones adecuadas para el desarrollo de la prueba.

Se empleó una muestra patrón que se obtiene a partir de un compuesto de microorganismos que se encuentran en la superficie de los tanques de Moroni y que provienen del medio ambiente; dichos microorganismos son, en su mayoría, del tipo bacilo y constituyen la fuente de contaminación primaria del Moroni. Los detalles de la preparación de la muestra patrón así como su tratamiento se describen a continuación:

a) Elaboración de la muestra patrón

a.1) Toma de muestra de superficie del tanque de Moromi con 3 a 4 meses de fermentación haciendo hasta 6 diluciones a partir de la muestra inicial tomada de planta.

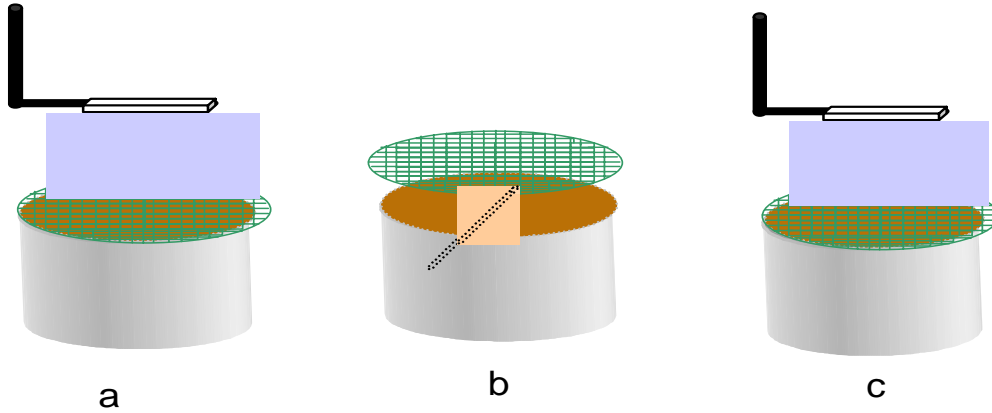
a.2) Siembra de las diluciones en placas Petri con TSA: como medio de soporte e incubarlas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ x 48hr (refrigerar 4 placas para su utilización posterior) se debe realizar aislamiento de la cepa predominante (los microorganismos del género *Bacillus* de preferencia)

a.3) Una vez realizado el aislamiento de las cepas predominantes en Solución Salina Fisiológica (100ml) se debe considerar esta solución como la Solución Patrón y es necesario realizar la verificación de turbidez de la misma en espectrofotómetro a 625nm esperando obtener una lectura de 0.08 a 0.1 de absorbancia (Verificación de la cantidad de la población bacteriana entre 1 a 2×10^8 ufc/ml de acuerdo a la escala de **Mc Farland** que es una escala específica para la comparación de turbidez vs. ufc/ml.)

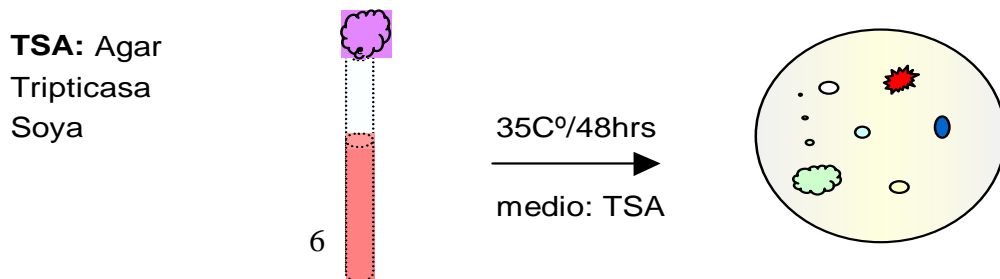
Esquema N° 2 de la elaboración de la muestra patrón

ELABORACION DE LA MUESTRA PATRON

1. Toma de muestra de los tanques de Moromi

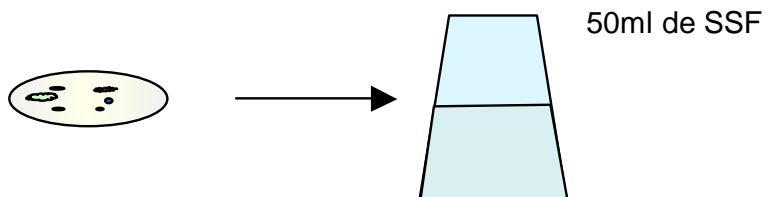


2. Siembra de muestra y evaluación de resultados



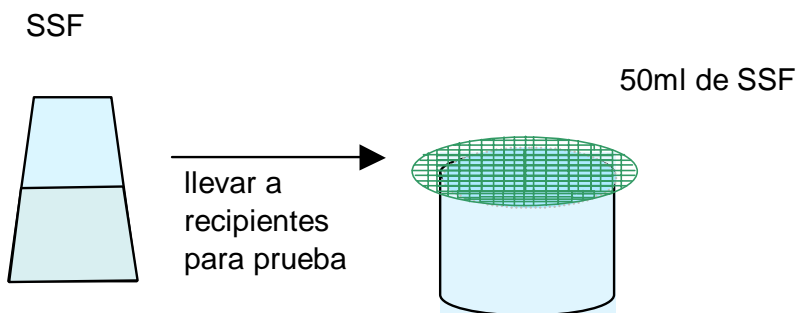
Realizar hasta 6 diluciones de la muestra inicial

3. Traspaso a Solución Salina Fisiológica (mantenimiento de cepas)



Realizar frotis de la muestra para confirmar *Bacillus*
Traspasar cantidad suficiente de colonias hasta obtener turbidez en la solución salina, realizar una medición de la turbidez para determinar la cantidad de unidades formadoras de colonias presentes.

4. Preparación de la muestra para la prueba



b) Evaluación de las condiciones de la comprobación

b.1) La muestra patrón será sometida a la exposición de luz UV a una altura de 10cm con un fluorescente UV nuevo.

b.2) Se evaluará la muestra por triplicado y se tomarán alícuotas de la misma a las 0 horas (muestra Mo), al cabo de la primera hora y finalmente a las tres horas de exposición.

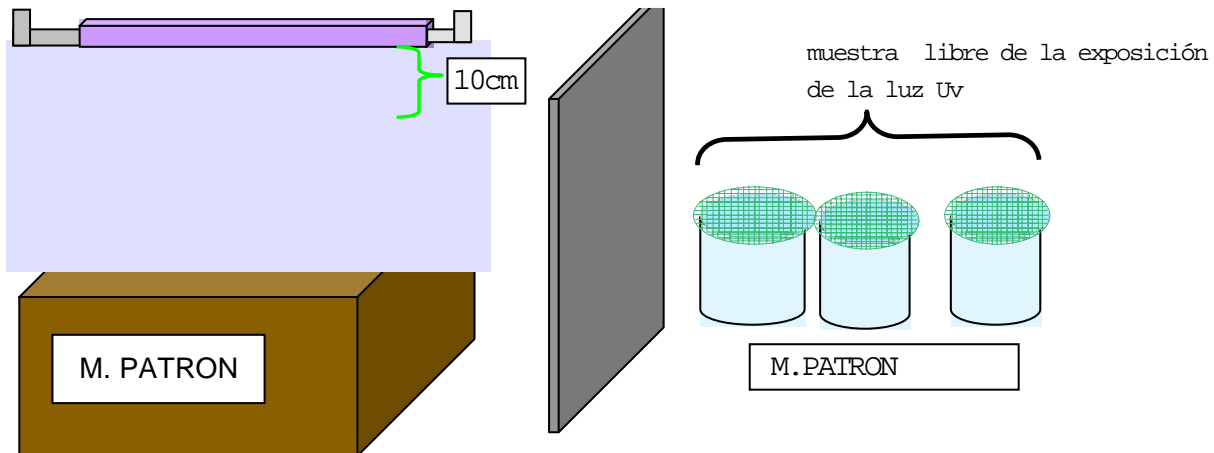
b.3) Realizar el sembrado en placas Petri con Agar Tripticasa Soya de las alícuotas de la muestra, realizando diluciones de ser necesario, a fin de determinar la disminución de la carga bacteriana de la muestra con respecto a la muestra Mo.

b.4) Incubar las placas sembradas a $35 \pm 1^\circ\text{C}$ x 24horas) a fin de obtener un adecuado crecimiento microbiológico (sobre todo lo que se busca es el crecimiento de Bacterias Aerobias Mesófilas) y de este modo hacer el recuento de unidades formadoras de colonias (ufc) de modo que se evidencie la disminución de la carga bacteriana con respecto al tiempo de exposición de la luz ultravioleta.

b.5) De acuerdo a los resultados obtenidos se evaluarán las condiciones para la segunda parte de la prueba.

b.6) La evaluación a realizar será para determinar si existe un efecto germicida mayor o igual al 90% de la luz UV y de haberlo, el mejor tiempo de exposición al fluorescente UV con el mayor porcentaje de reducción de la carga bacteriana.

Esquema N° 3 de la comprobación de la prueba



2.4.- Determinación de las condiciones de uso.-

a) Evaluación de la efectividad a distancia de la luz UV.-

a.1) Exponer la solución patrón a luz UV a una altura vertical de 10cm, 25cm y 50cm a una distancia horizontal de 1m y 2m (10cm, 25cm y 50cm vertical por cada distancia horizontal) usando fluorescente UV nuevo vs. la solución patrón sin exposición a la luz UV.

a.2) Realizar un muestreo a las 0 horas y a las 3 horas de exposición.

a.3) Realizar recuento microbiológico (microorganismos aerobios) para determinar el efecto de la luz UV.

a.4) Trabajar en diluciones de hasta $1/10^7$ esto de acuerdo a los resultados obtenidos en la validación de la prueba.

b) Evaluación de la efectividad a tiempo de uso de la luz UV.-

b.1) Realizar una prueba con fluorescentes de diferente tiempo de uso (4 y 3 meses).

b.2) Colocar a una altura de 25cm (vertical) y a 1 y 2m de distancia horizontal (25cm vertical). Realizar una prueba para cada fluorescente UV (de 4 y 3 meses de uso) vs. la solución patrón sin exposición a la luz UV.

b.3) Realizar un muestreo a las 0 horas y a las 3 horas de exposición.

b.4) Realizar conteo microbiológico (microorganismos aerobios) para determinar el efecto de la luz UV.

b.5) Trabajar en diluciones de hasta $1/10^7$.

c) Evaluación de los resultados obtenidos.-

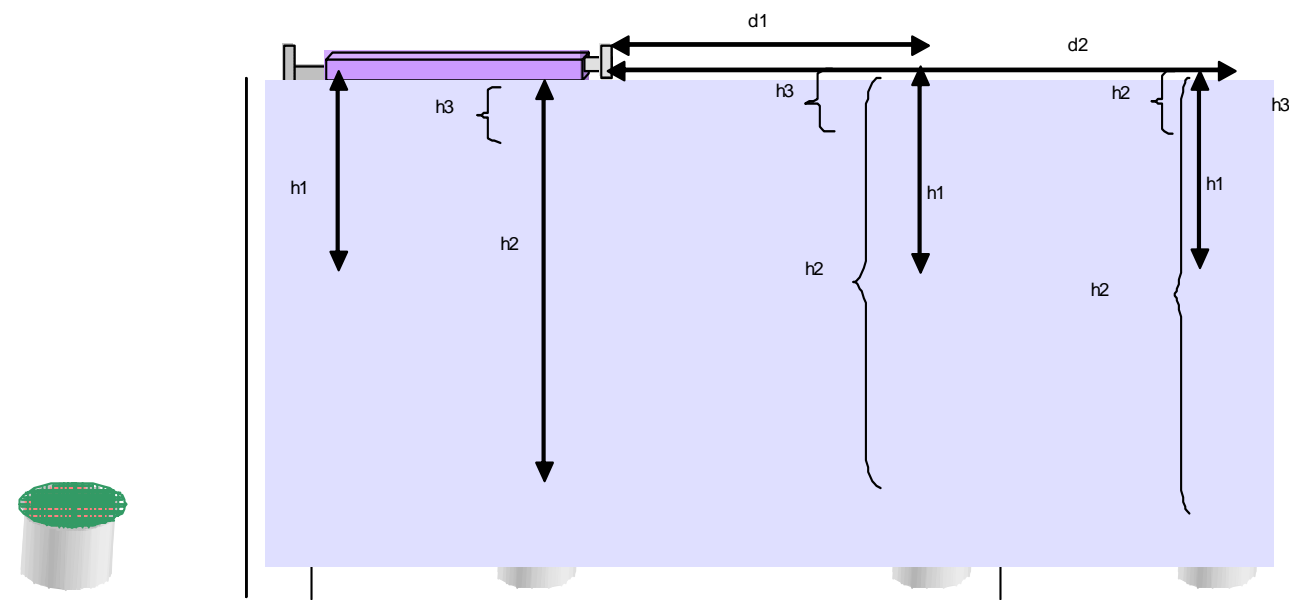
c.1) La evaluación a realizar será para determinar la mejor altura de colocación del fluorescente UV y su efectividad a distancia.

c.2) La evaluación a realizar será para determinar el mejor tiempo de uso del fluorescente UV.

ESQUEMAS DE EVALUACIÓN A EFECTIVIDAD DE DISTANCIA Y DE EFECTIVIDAD CON RESPECTO AL TIEMPO DE USO

Los siguientes esquemas detallan las condiciones en las que se llevó a cabo la prueba así como la validación de la misma a fin de hacer más didáctico la presente tesis.

1) Prueba de efectividad de distancia.- (Esquema N° 4)



Donde:

h1 : 25cm

h2 : 50cm

h3 : 10cm

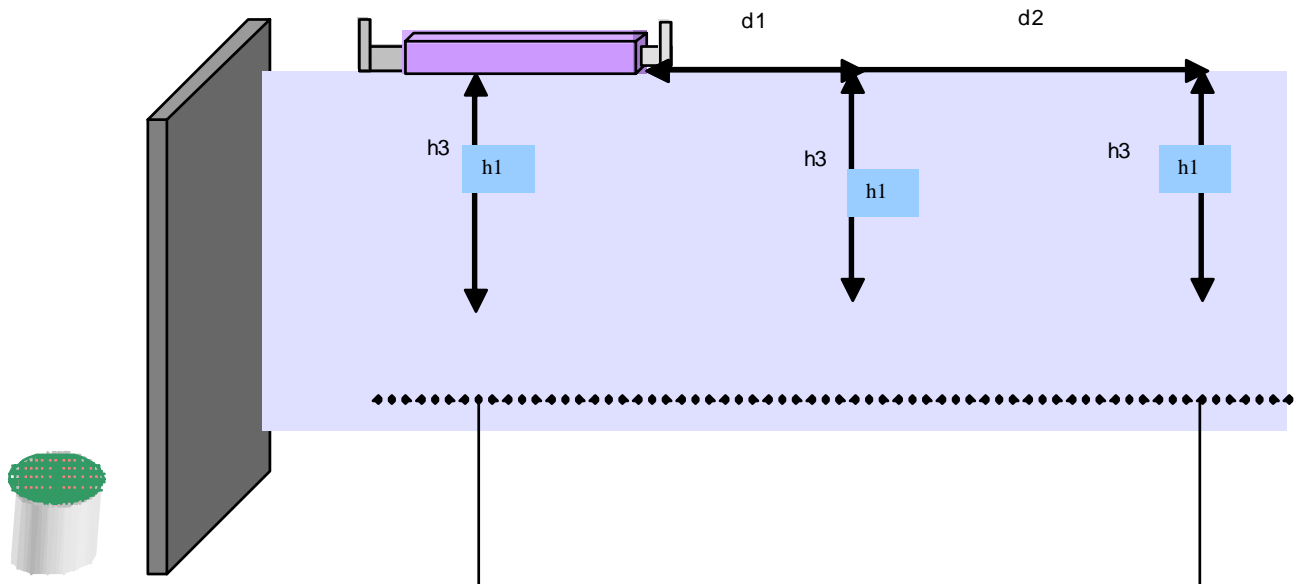
d1 : 1m

d2 : 2m

* Las muestras patrón fueron comparadas con un patrón sin exposición a la luz UV

* El muestreo se realizó a las 0 horas y a las 3 horas.

2) Prueba de efectividad por tiempo de uso (Esquema N°5)



Donde:

h1 : 25cm

d1 : 1m

d2 : 2m

* Las muestras patrón fueron comparadas con un patrón sin exposición a la luz UV

* El muestreo se realizó a las 0 horas y a las 3 horas.

A continuación las tablas que resumen el diseño de la prueba (parte experimental del presente trabajo)

DISEÑO DE LA PRUEBA:

Diseño de la comprobación.- (Cuadro N°1)

Uso de fluorescente nuevo vs cero exposición a la luz Uv (validación de la prueba)			* Total: 90 muestras (muestras tomadas por triplicado)
TIEMPO DE Uv:	3 MESES	SIN LUZ Uv	
Altura	h1=10cm	-----	
MEDIO:	M. PATRON	M. PATRON	
MUESTREO	0 horas	-----	
	1 hora	1 hora	
	3 horas	3 horas	
PARAMETRO CONTROLAR	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	
* Considerar 10cm de altura o distancia vertical respecto al fluorescente de luz Uv			

Diseño de la prueba de efectividad en distancia.- (Cuadro N°2)

RESUMEN DE LA PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA								
Uso de fluorescente de luz Uv nuevo vs caero expocisión a la luz Uv								
TIEMPO DE Uv:	SIN LUZ Uv	NUEVO	NUEVO	NUEVO	SIN LUZ Uv	NUEVO	NUEVO	NUEVO
Altura	-----	h1=25cm	d1=1m*	d2=2m*	-----	h1=50cm	d1=1m+	d2=2m+
MEDIO:	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON
MUESTREO	0 horas	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
	3 horas	3 horas	3 horas	3 horas	3 horas	3 horas	3 horas	3 horas
PARAMETRO CONTROLAR	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios
* Considerar 1m y 2m de distancia horizontal y 25cm de altura o distancia vertical respecto al fluorescente de luz Uv + Considerar 1m y 2m de distancia horizontal y 50cm de altura o distancia vertical respecto al fluorescente de luz Uv Total 90 muestras por condición								

Uso de fluorescente de luz Uv nuevo vs caero expocisión a la luz Uv				
TIEMPO DE Uv:	SIN LUZ Uv	NUEVO	NUEVO	NUEVO
Altura	-----	h1=10cm	d1=1m*	d2=2m*
MEDIO:	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON
MUESTREO	0 horas	-----	-----	-----
	3 horas	3 horas	3 horas	3 horas
PARAMETRO CONTROLAR	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios
* Considerar 1m y 2m de distancia horizontal y 10cm de altura o distancia vertical respecto al fluorescente de luz Uv Total 90 muestras por condición				


Diseño de la prueba de efectividad en tiempo.- (Cuadro N°3)

RESUMEN DE LA PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN TIEMPO								
Uso de fluorescente de luz Uv con 4 meses y 3 meses de uso vs cero exposición a la luz Uv (Pruebas independientes)								
TIEMPO DE Uv:	SIN LUZ Uv	3 MESES			SIN LUZ Uv	4 MESES		
Altura	-----	h1=25cm	d1=1m*	d2=2m*	-----	h1=25cm	d1=1m*	d2=2m*
MEDIO:	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON
MUESTREO	0 horas	-----	-----	-----	0 horas	-----	-----	-----
	3 horas	3 horas	3 horas	3 horas	3 horas	3 horas	3 horas	3 horas
PARAMETRO CONTROLAR	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios
* Considerar 1m y 2m de distancia horizontal y 25cm de altura o distancia vertical respecto al fluorescente de luz Uv								
Total 90 muestras por condición								

III. RESULTADOS OBTENIDOS.-

a) Resultados obtenidos en la Comprobación de prueba.- (Cuadro N°4)

Uso de fluorescente nuevo vs cero exposición a la luz Uv (validación de la prueba)						
TIEMPO DE Uv:	3 MESES			SIN LUZ Uv		
Altura	h1=10cm			-----		
MEDIO:	M. PATRON			M. PATRON		
0 horas	110x10 ⁶	96.3x10 ⁷	96.3x10 ⁷	-----		
1 hora	36x10 ⁶	130x10 ⁵	1x10 ⁵	97x10 ⁶	120x10 ⁶	124x10 ⁶
3 horas	100	50	<100	29x10 ⁷	17x10 ⁷	49x10 ⁷
CONTROLAR	Microorganismos aerobios			Microorganismos aerobios		
* Considerar 10cm de altura o distancia vertical respecto al fluorescente de luz Uv						

	% efectividad
1 hora	92.88
3 horas	99.99

b) Resultados Obtenidos en el Test I de la prueba: Efectividad en distancia (cuadro N° 5)

Uso de fluorescente de luz Uv nuevo vs caero exposición a la luz Uv								
TIEMPO DE Uv:	SIN LUZ Uv	NUEVO	NUEVO	NUEVO	SIN LUZ Uv	NUEVO	NUEVO	NUEVO
Altura	-----	h1=25cm	d1=1m*	d2=2m*	-----	h1=50cm	d1=1m ⁺	d2=2m ⁺
MEDIO:	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON
0 horas	164x10⁶							
3 horas	>10⁸	100	44x10⁵	4x10⁶	18x10⁷	300	54x10⁴	>1000000
% de efectividad	-----	99.99	97.32	97.56	-----	99.99	99.78	no se puede determinar
PARAMETRO CONTROLAR	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios
* Considerar 1m y 2m de distancia horizontal y 25cm de altura o distancia vertical respecto al fluorescente de luz Uv								
+ Considerar 1m y 2m de distancia horizontal y 50cm de altura o distancia vertical respecto al fluorescente de luz Uv								

Uso de fluorescente de luz Uv nuevo vs caero exposición a la luz Uv				
TIEMPO DE Uv:	SIN LUZ Uv	NUEVO	NUEVO	NUEVO
Altura	-----	h1=10cm	d1=1m*	d2=2m*
MEDIO:	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON
0 horas	4.3x10⁷			
3 horas	58.3x10⁷	13.3	14.6x10⁵	85.7x10⁵
% de efectividad	-----	99.99	96.23	80.20
PARAMETRO CONTROLAR	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios
* Considerar 1m y 2m de distancia horizontal y 10cm de altura o distancia vertical respecto al fluorescente de luz Uv				

c) Resultados obtenidos en la segunda parte de la prueba: Efectividad en el tiempo (Cuadro N° 6)

Uso de fluorescente de luz Uv con 4 meses y 3 meses de uso vs cero exposición a la luz Uv (Pruebas independientes)								
TIEMPO DE Uv:	SIN LUZ Uv	3 MESES			SIN LUZ Uv	4 MESES		
Altura	-----	h1=25cm	d1=1m*	d2=2m*	-----	h1=25cm	d1=1m*	d2=2m*
MEDIO:	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON	M. PATRON
0 horas	96.3x10⁷				43x10⁷			
3 horas	100.3x10 ⁸	13	30x10 ⁵	32.3x10 ⁵	523x10 ⁸	543	55.4x10 ⁵	53.18x10 ⁶
% de efectividad	-----	99.99	99.68	99.66	-----	99.99	98.71	87.84
PARAMETRO CONTROLAR	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios	Microorganismos aerobios
* Considerar 1m y 2m de distancia horizontal y 25cm de altura o distancia vertical respecto al fluorescente de luz Uv								

RESULTADOS DE LA COMPROBACION DE LA PRUEBA POR MUESTRAS.- (Tablas 1 al 5)

No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados
1	Patron	Sin Exposicion 1 hora despues	106	120	1	Patron	Sin Exposicion 1 hora despues	107	12	1	Patron	Sin Exposicion 1 hora despues	108	<10
2	Patron		106	90	2	Patron		107	9	2	Patron		108	1
3	Patron		106	80	3	Patron		107	8	3	Patron		108	<10
4	Patron		106	60	4	Patron		107	9	4	Patron		108	<10
5	Patron		106	70	5	Patron		107	8	5	Patron		108	<10
6	Patron		106	620	6	Patron		107	9	6	Patron		108	2
7	Patron		106	90	7	Patron		107	9	7	Patron		108	<10
8	Patron		106	50	8	Patron		107	64	8	Patron		108	<10
9	Patron		106	60	9	Patron		107	7	9	Patron		108	<10
10	Patron		106	80	10	Patron		107	8	10	Patron		108	<10
11	Patron		106	90	11	Patron		107	9	11	Patron		108	<10
12	Patron		106	50	12	Patron		107	7	12	Patron		108	<10
13	Patron		106	90	13	Patron		107	9	13	Patron		108	1
14	Patron		106	80	14	Patron		107	8	14	Patron		108	<10
15	Patron		106	70	15	Patron		107	9	15	Patron		108	<10
16	Patron		106	70	16	Patron		107	7	16	Patron		108	<10
17	Patron		106	90	17	Patron		107	9	17	Patron		108	<10
18	Patron		106	60	18	Patron		107	8	18	Patron		108	<10
19	Patron		106	90	19	Patron		107	9	19	Patron		108	1
20	Patron		106	80	20	Patron		107	8	20	Patron		108	<10
21	Patron		106	70	21	Patron		107	7	21	Patron		108	<10
22	Patron		106	90	22	Patron		107	9	22	Patron		108	1
23	Patron		106	50	23	Patron		107	6	23	Patron		108	<10
24	Patron		106	80	24	Patron		107	9	24	Patron		108	<10
25	Patron		106	90	25	Patron		107	8	25	Patron		108	1
26	Patron		106	80	26	Patron		107	60	26	Patron		108	<10
27	Patron		106	98	27	Patron		107	9	27	Patron		108	<10
28	Patron		106	97	28	Patron		107	9	28	Patron		108	<10
29	Patron		106	80	29	Patron		107	9	29	Patron		108	1
30	Patron		106	90	30	Patron		107	9	30	Patron		108	<10

Donde: $106 = 10^6$, $107 = 10^7$ y $108 = 10^8$

Resultados expresados en ufc/ml

No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados
1	Patron		106	312	1	Patron		107	19	1	Patron		108	6
2	Patron		106	302	2	Patron		107	17	2	Patron		108	5
3	Patron		106	296	3	Patron		107	17	3	Patron		108	6
4	Patron		106	290	4	Patron		107	9	4	Patron		108	4
5	Patron		106	268	5	Patron		107	16	5	Patron		108	6
6	Patron		106	610	6	Patron		107	18	6	Patron		108	5
7	Patron		106	269	7	Patron		107	9	7	Patron		108	4
8	Patron		106	275	8	Patron		107	64	8	Patron		108	4
9	Patron		106	268	9	Patron		107	15	9	Patron		108	5
10	Patron		106	255	10	Patron		107	19	10	Patron		108	6
11	Patron		106	298	11	Patron		107	9	11	Patron		108	5
12	Patron		106	245	12	Patron		107	17	12	Patron		108	4
13	Patron		106	310	13	Patron		107	9	13	Patron		108	3
14	Patron	Sin Exposicion 3 horas despues	106	295	14	Patron	Sin Exposicion 3 horas despues	107	19	14	Patron	Sin Exposicion 3 horas despues	108	5
15	Patron		106	289	15	Patron		107	15	15	Patron		108	4
16	Patron		106	194	16	Patron		107	16	16	Patron		108	5
17	Patron		106	239	17	Patron		107	18	17	Patron		108	4
18	Patron		106	150	18	Patron		107	17	18	Patron		108	5
19	Patron		106	192	19	Patron		107	9	19	Patron		108	4
20	Patron		106	645	20	Patron		107	20	20	Patron		108	4
21	Patron		106	301	21	Patron		107	18	21	Patron		108	6
22	Patron		106	279	22	Patron		107	14	22	Patron		108	3
23	Patron		106	256	23	Patron		107	16	23	Patron		108	5
24	Patron		106	218	24	Patron		107	15	24	Patron		108	5
25	Patron		106	268	25	Patron		107	14	25	Patron		108	6
26	Patron		106	237	26	Patron		107	13	26	Patron		108	8
27	Patron		106	296	27	Patron		107	17	27	Patron		108	5
28	Patron		106	290	28	Patron		107	18	28	Patron		108	5
29	Patron		106	283	29	Patron		107	17	29	Patron		108	4
30	Patron		106	299	30	Patron		107	16	30	Patron		108	6

Donde: $106 = 10^6$, $107 = 10^7$ y $108 = 10^8$

Resultados expresados en ufc/ml

No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados
1	Patron	Exposicion 0 horas	106	10000	1	Patron	Exposicion 0 horas	107	100	1	Patron	Exposicion 0 horas	108	9
2	Patron		106	11000	2	Patron		107	91	2	Patron		108	10
3	Patron		106	10500	3	Patron		107	92	3	Patron		108	9
4	Patron		106	12000	4	Patron		107	101	4	Patron		108	9
5	Patron		106	10600	5	Patron		107	99	5	Patron		108	10
6	Patron		106	14000	6	Patron		107	100	6	Patron		108	9
7	Patron		106	10000	7	Patron		107	90	7	Patron		108	10
8	Patron		106	9000	8	Patron		107	91	8	Patron		108	9
9	Patron		106	10800	9	Patron		107	90	9	Patron		108	9
10	Patron		106	12000	10	Patron		107	110	10	Patron		108	10
11	Patron		106	10900	11	Patron		107	93	11	Patron		108	9
12	Patron		106	13000	12	Patron		107	90	12	Patron		108	11
13	Patron		106	10400	13	Patron		107	90	13	Patron		108	9
14	Patron		106	11000	14	Patron		107	100	14	Patron		108	10
15	Patron		106	11000	15	Patron		107	90	15	Patron		108	9
16	Patron		106	10000	16	Patron		107	101	16	Patron		108	9
17	Patron		106	11000	17	Patron		107	90	17	Patron		108	9
18	Patron		106	10000	18	Patron		107	90	18	Patron		108	9
19	Patron		106	11000	19	Patron		107	102	19	Patron		108	11
20	Patron		106	11000	20	Patron		107	110	20	Patron		108	10
21	Patron		106	13000	21	Patron		107	90	21	Patron		108	9
22	Patron		106	12000	22	Patron		107	90	22	Patron		108	10
23	Patron		106	10000	23	Patron		107	110	23	Patron		108	10
24	Patron		106	11000	24	Patron		107	110	24	Patron		108	11
25	Patron		106	12000	25	Patron		107	90	25	Patron		108	9
26	Patron		106	10000	26	Patron		107	89	26	Patron		108	11
27	Patron		106	11000	27	Patron		107	100	27	Patron		108	10
28	Patron		106	10900	28	Patron		107	102	28	Patron		108	9
29	Patron		106	10000	29	Patron		107	101	29	Patron		108	10
30	Patron		106	11000	30	Patron		107	89	30	Patron		108	10

Donde: $106 = 10^6$, $107 = 10^7$ y $108 = 10^8$

Resultados expresados en ufc/ml

No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados
1	Patron		106	35	1	Patron		105	129	1	Patron		105	1
2	Patron		106	34	2	Patron		105	130	2	Patron		105	1
3	Patron		106	36	3	Patron		105	131	3	Patron		105	1
4	Patron		106	37	4	Patron		105	130	4	Patron		105	1
5	Patron		106	33	5	Patron		105	131	5	Patron		105	1
6	Patron		106	42	6	Patron		105	130	6	Patron		105	1
7	Patron		106	41	7	Patron		105	130	7	Patron		105	1
8	Patron		106	38	8	Patron		105	128	8	Patron		105	2
9	Patron		106	36	9	Patron		105	120	9	Patron		105	1
10	Patron		106	37	10	Patron		105	140	10	Patron		105	1
11	Patron		106	37	11	Patron		105	130	11	Patron		105	2
12	Patron		106	36	12	Patron		105	129	12	Patron		105	1
13	Patron		106	34	13	Patron		105	131	13	Patron		105	1
14	Patron		106	33	14	Patron		105	131	14	Patron		105	1
15	Patron	Exposicion 1 hora	106	36	15	Patron	Exposicion 1 hora	105	130	15	Patron	Exposicion 1 hora	105	1
16	Patron		106	40	16	Patron		105	128	16	Patron		105	1
17	Patron		106	33	17	Patron		105	129	17	Patron		105	1
18	Patron		106	33	18	Patron		105	130	18	Patron		105	1
19	Patron		106	36	19	Patron		105	130	19	Patron		105	1
20	Patron		106	36	20	Patron		105	126	20	Patron		105	1
21	Patron		106	39	21	Patron		105	138	21	Patron		105	<10
22	Patron		106	36	22	Patron		105	130	22	Patron		105	1
23	Patron		106	34	23	Patron		105	130	23	Patron		105	1
24	Patron		106	33	24	Patron		105	130	24	Patron		105	<10
25	Patron		106	36	25	Patron		105	130	25	Patron		105	1
26	Patron		106	36	26	Patron		105	130	26	Patron		105	1
27	Patron		106	37	27	Patron		105	131	27	Patron		105	1
28	Patron		106	36	28	Patron		105	131	28	Patron		105	1
29	Patron		106	36	29	Patron		105	129	29	Patron		105	1
30	Patron		106	36	30	Patron		105	129	30	Patron		105	1

Donde: $106 = 10^6$ y $105 = 10^5$

Resultados expresados en ufc/ml

No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilucion	Resultados
1	Patron	Exposicion 3 horas	101	10	1	Patron	Exposicion 3 horas	101	4	1	Patron	Exposicion 3 horas	102	<10
2	Patron		101	12	2	Patron		101	5	2	Patron		102	<10
3	Patron		101	10	3	Patron		101	5	3	Patron		102	<10
4	Patron		101	9	4	Patron		101	5	4	Patron		102	1
5	Patron		101	10	5	Patron		101	6	5	Patron		102	<10
6	Patron		101	8	6	Patron		101	4	6	Patron		102	<10
7	Patron		101	12	7	Patron		101	5	7	Patron		102	<10
8	Patron		101	11	8	Patron		101	5	8	Patron		102	<10
9	Patron		101	10	9	Patron		101	4	9	Patron		102	<10
10	Patron		101	10	10	Patron		101	5	10	Patron		102	<10
11	Patron		101	10	11	Patron		101	5	11	Patron		102	1
12	Patron		101	10	12	Patron		101	4	12	Patron		102	<10
13	Patron		101	10	13	Patron		101	5	13	Patron		102	1
14	Patron		101	10	14	Patron		101	4	14	Patron		102	<10
15	Patron		101	10	15	Patron		101	5	15	Patron		102	<10
16	Patron		101	10	16	Patron		101	6	16	Patron		102	<10
17	Patron		101	11	17	Patron		101	5	17	Patron		102	1
18	Patron		101	12	18	Patron		101	4	18	Patron		102	1
19	Patron		101	10	19	Patron		101	5	19	Patron		102	1
20	Patron		101	7	20	Patron		101	5	20	Patron		102	<10
21	Patron		101	10	21	Patron		101	6	21	Patron		102	<10
22	Patron		101	10	22	Patron		101	5	22	Patron		102	1
23	Patron		101	9	23	Patron		101	5	23	Patron		102	1
24	Patron		101	10	24	Patron		101	5	24	Patron		102	<10
25	Patron		101	10	25	Patron		101	9	25	Patron		102	1
26	Patron		101	9	26	Patron		101	5	26	Patron		102	<10
27	Patron		101	10	27	Patron		101	5	27	Patron		102	<10
28	Patron		101	10	28	Patron		101	4	28	Patron		102	1
29	Patron		101	10	29	Patron		101	6	29	Patron		102	<10
30	Patron		101	10	30	Patron		101	4	30	Patron		102	<10

Donde: $101 = 10^1$ y $102 = 10^2$

Resultados expresados en ufc/ml

Resultados obtenidos en el test de efectividad a distancia de la segunda parte de la prueba por muestra.- (tablas 6 al 16)

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Sin Exposición (0 horas)	106	166	1	Patron	Sin Exposición (0 horas)	106	162	1	Patron	Sin Exposición (0 horas)	107	16
2	Patron		106	165	2	Patron		106	166	2	Patron		107	15
3	Patron		106	162	3	Patron		106	164	3	Patron		107	14
4	Patron		106	163	4	Patron		106	164	4	Patron		107	15
5	Patron		106	164	5	Patron		106	162	5	Patron		107	15
6	Patron		106	164	6	Patron		106	163	6	Patron		107	16
7	Patron		106	166	7	Patron		106	164	7	Patron		107	17
8	Patron		106	162	8	Patron		106	163	8	Patron		107	16
9	Patron		106	163	9	Patron		106	163	9	Patron		107	16
10	Patron		106	165	10	Patron		106	164	10	Patron		107	18
11	Patron		106	164	11	Patron		106	164	11	Patron		107	17
12	Patron		106	166	12	Patron		106	162	12	Patron		107	17
13	Patron		106	166	13	Patron		106	166	13	Patron		107	16
14	Patron		106	166	14	Patron		106	164	14	Patron		107	16
15	Patron		106	163	15	Patron		106	165	15	Patron		107	16
16	Patron		106	163	16	Patron		106	165	16	Patron		107	16
17	Patron		106	163	17	Patron		106	164	17	Patron		107	17
18	Patron		106	163	18	Patron		106	164	18	Patron		107	17
19	Patron		106	164	19	Patron		106	163	19	Patron		107	18
20	Patron		106	164	20	Patron		106	163	20	Patron		107	16
21	Patron		106	164	21	Patron		106	162	21	Patron		107	16
22	Patron		106	165	22	Patron		106	164	22	Patron		107	18
23	Patron		106	165	23	Patron		106	166	23	Patron		107	18
24	Patron		106	165	24	Patron		106	166	24	Patron		107	18
25	Patron		106	162	25	Patron		106	162	25	Patron		107	16
26	Patron		106	164	26	Patron		106	166	26	Patron		107	18
27	Patron		106	162	27	Patron		106	164	27	Patron		107	15
28	Patron		106	162	28	Patron		106	165	28	Patron		107	16
29	Patron		106	165	29	Patron		106	164	29	Patron		107	17
30	Patron		106	164	30	Patron		106	166	30	Patron		107	16

Donde: 106 = 10^6 y 107 = 10^7 . Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Sin Exposición (3 horas)	107	>10000	1	Patron	Sin Exposición (3 horas)	108	>1000	1	Patron	Sin Exposición (3 horas)	108	>1000
2	Patron		107	>10000	2	Patron		108	>1000	2	Patron		108	>1000
3	Patron		107	>10000	3	Patron		108	>1000	3	Patron		108	>1000
4	Patron		107	>10000	4	Patron		108	>1000	4	Patron		108	>1000
5	Patron		107	>10000	5	Patron		108	>1000	5	Patron		108	>1000
6	Patron		107	>10000	6	Patron		108	>1000	6	Patron		108	>1000
7	Patron		107	>10000	7	Patron		108	>1000	7	Patron		108	>1000
8	Patron		107	>10000	8	Patron		108	>1000	8	Patron		108	>1000
9	Patron		107	>10000	9	Patron		108	>1000	9	Patron		108	>1000
10	Patron		107	>10000	10	Patron		108	>1000	10	Patron		108	>1000
11	Patron		107	>10000	11	Patron		108	>1000	11	Patron		108	>1000
12	Patron		107	>10000	12	Patron		108	>1000	12	Patron		108	>1000
13	Patron		107	>10000	13	Patron		108	>1000	13	Patron		108	>1000
14	Patron		107	>10000	14	Patron		108	>1000	14	Patron		108	>1000
15	Patron		107	>10000	15	Patron		108	>1000	15	Patron		108	>1000
16	Patron		107	>10000	16	Patron		108	>1000	16	Patron		108	>1000
17	Patron		107	>10000	17	Patron		108	>1000	17	Patron		108	>1000
18	Patron		107	>10000	18	Patron		108	>1000	18	Patron		108	>1000
19	Patron		107	>10000	19	Patron		108	>1000	19	Patron		108	>1000
20	Patron		107	>10000	20	Patron		108	>1000	20	Patron		108	>1000
21	Patron		107	>10000	21	Patron		108	>1000	21	Patron		108	>1000
22	Patron		107	>10000	22	Patron		108	>1000	22	Patron		108	>1000
23	Patron		107	>10000	23	Patron		108	>1000	23	Patron		108	>1000
24	Patron		107	>10000	24	Patron		108	>1000	24	Patron		108	>1000
25	Patron		107	>10000	25	Patron		108	>1000	25	Patron		108	>1000
26	Patron		107	>10000	26	Patron		108	>1000	26	Patron		108	>1000
27	Patron		107	>10000	27	Patron		108	>1000	27	Patron		108	>1000
28	Patron		107	>10000	28	Patron		108	>1000	28	Patron		108	>1000
29	Patron		107	>10000	29	Patron		108	>1000	29	Patron		108	>1000
30	Patron		107	>10000	30	Patron		108	>1000	30	Patron		108	>1000

Donde: $108 = 10^8$ y $107 = 10^7$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Exposición (3 horas) 10cm de alto y 0m de largo	101	14	1	Patron	Exposición (3 horas) 10cm de alto y 0m de largo	101	12	1	Patron	Exposición (3 horas) 10cm de alto y 0m de largo	101	13
2	Patron		101	13	2	Patron		101	16	2	Patron		101	16
3	Patron		101	14	3	Patron		101	11	3	Patron		101	12
4	Patron		101	13	4	Patron		101	15	4	Patron		101	11
5	Patron		101	12	5	Patron		101	16	5	Patron		101	13
6	Patron		101	15	6	Patron		101	14	6	Patron		101	14
7	Patron		101	13	7	Patron		101	13	7	Patron		101	13
8	Patron		101	13	8	Patron		101	15	8	Patron		101	13
9	Patron		101	13	9	Patron		101	12	9	Patron		101	16
10	Patron		101	15	10	Patron		101	14	10	Patron		101	15
11	Patron		101	12	11	Patron		101	13	11	Patron		101	13
12	Patron		101	15	12	Patron		101	16	12	Patron		101	13
13	Patron		101	13	13	Patron		101	18	13	Patron		101	13
14	Patron		101	14	14	Patron		101	11	14	Patron		101	14
15	Patron		101	12	15	Patron		101	12	15	Patron		101	14
16	Patron		101	13	16	Patron		101	13	16	Patron		101	13
17	Patron		101	12	17	Patron		101	16	17	Patron		101	13
18	Patron		101	13	18	Patron		101	14	18	Patron		101	14
19	Patron		101	13	19	Patron		101	12	19	Patron		101	11
20	Patron		101	12	20	Patron		101	11	20	Patron		101	13
21	Patron		101	13	21	Patron		101	13	21	Patron		101	12
22	Patron		101	14	22	Patron		101	11	22	Patron		101	12
23	Patron		101	14	23	Patron		101	13	23	Patron		101	14
24	Patron		101	13	24	Patron		101	14	24	Patron		101	14
25	Patron		101	13	25	Patron		101	13	25	Patron		101	13
26	Patron		101	13	26	Patron		101	13	26	Patron		101	13
27	Patron		101	14	27	Patron		101	11	27	Patron		101	14
28	Patron		101	14	28	Patron		101	13	28	Patron		101	12
29	Patron		101	14	29	Patron		101	11	29	Patron		101	15
30	Patron		101	13	30	Patron		101	13	30	Patron		101	13

Donde: $101 = 10^1$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Exposición (3 horas) 10cm de alto y 1m de largo	104	145	1	Patron	Exposición (3 horas) 10cm de alto y 1m de largo	104	147	1	Patron	Exposición (3 horas) 10cm de alto y 1m de largo	105	15
2	Patron		104	146	2	Patron		104	147	2	Patron		105	16
3	Patron		104	149	3	Patron		104	145	3	Patron		105	14
4	Patron		104	146	4	Patron		104	146	4	Patron		105	13
5	Patron		104	148	5	Patron		104	146	5	Patron		105	14
6	Patron		104	150	6	Patron		104	145	6	Patron		105	14
7	Patron		104	140	7	Patron		104	159	7	Patron		105	18
8	Patron		104	149	8	Patron		104	150	8	Patron		105	16
9	Patron		104	146	9	Patron		104	139	9	Patron		105	13
10	Patron		104	160	10	Patron		104	141	10	Patron		105	13
11	Patron		104	147	11	Patron		104	148	11	Patron		105	15
12	Patron		104	147	12	Patron		104	146	12	Patron		105	14
13	Patron		104	146	13	Patron		104	146	13	Patron		105	14
14	Patron		104	148	14	Patron		104	143	14	Patron		105	15
15	Patron		104	146	15	Patron		104	143	15	Patron		105	15
16	Patron		104	145	16	Patron		104	149	16	Patron		105	14
17	Patron		104	146	17	Patron		104	145	17	Patron		105	14
18	Patron		104	140	18	Patron		104	146	18	Patron		105	13
19	Patron		104	142	19	Patron		104	147	19	Patron		105	13
20	Patron		104	141	20	Patron		104	146	20	Patron		105	14
21	Patron		104	139	21	Patron		104	145	21	Patron		105	14
22	Patron		104	146	22	Patron		104	145	22	Patron		105	15
23	Patron		104	145	23	Patron		104	146	23	Patron		105	16
24	Patron		104	147	24	Patron		104	146	24	Patron		105	14
25	Patron		104	147	25	Patron		104	145	25	Patron		105	14
26	Patron		104	145	26	Patron		104	145	26	Patron		105	14
27	Patron		104	146	27	Patron		104	146	27	Patron		105	15
28	Patron		104	145	28	Patron		104	146	28	Patron		105	16
29	Patron		104	147	29	Patron		104	146	29	Patron		105	17
30	Patron		104	146	30	Patron		104	146	30	Patron		105	16

Donde: $104 = 10^4$ y $105 = 10^5$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Exposición (3 horas) 10cm de alto y 2m de largo	104	859	1	Patron	Exposición (3 horas) 10cm de alto y 2m de largo	104	890	1	Patron	Exposición (3 horas) 10cm de alto y 2m de largo	105	86
2	Patron		104	867	2	Patron		104	860	2	Patron		105	88
3	Patron		104	857	3	Patron		104	856	3	Patron		105	87
4	Patron		104	857	4	Patron		104	845	4	Patron		105	88
5	Patron		104	856	5	Patron		104	853	5	Patron		105	83
6	Patron		104	889	6	Patron		104	856	6	Patron		105	80
7	Patron		104	856	7	Patron		104	857	7	Patron		105	90
8	Patron		104	878	8	Patron		104	856	8	Patron		105	85
9	Patron		104	868	9	Patron		104	857	9	Patron		105	86
10	Patron		104	863	10	Patron		104	857	10	Patron		105	87
11	Patron		104	863	11	Patron		104	856	11	Patron		105	89
12	Patron		104	852	12	Patron		104	830	12	Patron		105	81
13	Patron		104	851	13	Patron		104	856	13	Patron		105	86
14	Patron		104	850	14	Patron		104	852	14	Patron		105	86
15	Patron		104	852	15	Patron		104	855	15	Patron		105	82
16	Patron		104	830	16	Patron		104	858	16	Patron		105	89
17	Patron		104	859	17	Patron		104	885	17	Patron		105	87
18	Patron		104	857	18	Patron		104	852	18	Patron		105	88
19	Patron		104	856	19	Patron		104	857	19	Patron		105	85
20	Patron		104	855	20	Patron		104	856	20	Patron		105	86
21	Patron		104	853	21	Patron		104	856	21	Patron		105	81
22	Patron		104	852	22	Patron		104	857	22	Patron		105	87
23	Patron		104	855	23	Patron		104	852	23	Patron		105	88
24	Patron		104	856	24	Patron		104	853	24	Patron		105	85
25	Patron		104	857	25	Patron		104	858	25	Patron		105	83
26	Patron		104	852	26	Patron		104	855	26	Patron		105	85
27	Patron		104	851	27	Patron		104	865	27	Patron		105	86
28	Patron		104	852	28	Patron		104	854	28	Patron		105	87
29	Patron		104	852	29	Patron		104	859	29	Patron		105	82
30	Patron		104	855	30	Patron		104	857	30	Patron		105	88

Donde: $104 = 10^4$ y $105 = 10^5$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Exposición (3 horas) 25cm de alto y 0m de largo	101	100	1	Patron	Exposición (3 horas) 25cm de alto y 0m de largo	101	99	1	Patron	Exposición (3 horas) 25cm de alto y 0m de largo	101	101
2	Patron		101	99	2	Patron		101	90	2	Patron		101	103
3	Patron		101	92	3	Patron		101	119	3	Patron		101	104
4	Patron		101	113	4	Patron		101	112	4	Patron		101	106
5	Patron		101	115	5	Patron		101	101	5	Patron		101	103
6	Patron		101	88	6	Patron		101	89	6	Patron		101	107
7	Patron		101	74	7	Patron		101	99	7	Patron		101	99
8	Patron		101	99	8	Patron		101	100	8	Patron		101	89
9	Patron		101	119	9	Patron		101	100	9	Patron		101	93
10	Patron		101	100	10	Patron		101	106	10	Patron		101	96
11	Patron		101	100	11	Patron		101	104	11	Patron		101	99
12	Patron		101	101	12	Patron		101	102	12	Patron		101	92
13	Patron		101	117	13	Patron		101	99	13	Patron		101	99
14	Patron		101	110	14	Patron		101	89	14	Patron		101	100
15	Patron		101	95	15	Patron		101	98	15	Patron		101	89
16	Patron		101	94	16	Patron		101	89	16	Patron		101	87
17	Patron		101	88	17	Patron		101	131	17	Patron		101	120
18	Patron		101	112	18	Patron		101	120	18	Patron		101	119
19	Patron		101	116	19	Patron		101	100	19	Patron		101	86
20	Patron		101	114	20	Patron		101	110	20	Patron		101	90
21	Patron		101	100	21	Patron		101	100	21	Patron		101	114
22	Patron		101	89	22	Patron		101	89	22	Patron		101	106
23	Patron		101	100	23	Patron		101	84	23	Patron		101	101
24	Patron		101	86	24	Patron		101	100	24	Patron		101	99
25	Patron		101	95	25	Patron		101	83	25	Patron		101	93
26	Patron		101	99	26	Patron		101	81	26	Patron		101	101
27	Patron		101	100	27	Patron		101	104	27	Patron		101	102
28	Patron		101	100	28	Patron		101	99	28	Patron		101	103
29	Patron		101	86	29	Patron		101	101	29	Patron		101	99
30	Patron		101	99	30	Patron		101	102	30	Patron		101	100

Donde: $101 = 10^1$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Exposición (3 horas) 25cm de alto y 1m de largo	104	430	1	Patron	Exposición (3 horas) 25cm de alto y 1m de largo	104	441	1	Patron	Exposición (3 horas) 25cm de alto y 1m de largo	105	44
2	Patron		104	433	2	Patron		104	432	2	Patron		105	47
3	Patron		104	447	3	Patron		104	447	3	Patron		105	49
4	Patron		104	449	4	Patron		104	439	4	Patron		105	42
5	Patron		104	436	5	Patron		104	440	5	Patron		105	46
6	Patron		104	445	6	Patron		104	446	6	Patron		105	45
7	Patron		104	449	7	Patron		104	439	7	Patron		105	41
8	Patron		104	451	8	Patron		104	440	8	Patron		105	43
9	Patron		104	430	9	Patron		104	441	9	Patron		105	46
10	Patron		104	420	10	Patron		104	442	10	Patron		105	36
11	Patron		104	436	11	Patron		104	443	11	Patron		105	45
12	Patron		104	460	12	Patron		104	439	12	Patron		105	44
13	Patron		104	445	13	Patron		104	438	13	Patron		105	49
14	Patron		104	433	14	Patron		104	448	14	Patron		105	44
15	Patron		104	436	15	Patron		104	445	15	Patron		105	43
16	Patron		104	440	16	Patron		104	446	16	Patron		105	39
17	Patron		104	443	17	Patron		104	449	17	Patron		105	50
18	Patron		104	436	18	Patron		104	431	18	Patron		105	46
19	Patron		104	442	19	Patron		104	430	19	Patron		105	31
20	Patron		104	438	20	Patron		104	447	20	Patron		105	44
21	Patron		104	437	21	Patron		104	448	21	Patron		105	45
22	Patron		104	451	22	Patron		104	440	22	Patron		105	46
23	Patron		104	442	23	Patron		104	430	23	Patron		105	47
24	Patron		104	452	24	Patron		104	443	24	Patron		105	45
25	Patron		104	445	25	Patron		104	433	25	Patron		105	44
26	Patron		104	424	26	Patron		104	440	26	Patron		105	43
27	Patron		104	433	27	Patron		104	439	27	Patron		105	43
28	Patron		104	438	28	Patron		104	437	28	Patron		105	44
29	Patron		104	439	29	Patron		104	436	29	Patron		105	43
30	Patron		104	440	30	Patron		104	431	30	Patron		105	46

Donde: $104 = 10^4$ y $105 = 10^5$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Exposición (3 horas) 25cm de alto y 2m de largo	105	39	1	Patron	Exposición (3 horas) 25cm de alto y 2m de largo	105	46	1	Patron	Exposición (3 horas) 25cm de alto y 2m de largo	106	5
2	Patron		105	40	2	Patron		105	39	2	Patron		106	4
3	Patron		105	46	3	Patron		105	44	3	Patron		106	6
4	Patron		105	33	4	Patron		105	40	4	Patron		106	3
5	Patron		105	45	5	Patron		105	31	5	Patron		106	4
6	Patron		105	31	6	Patron		105	39	6	Patron		106	6
7	Patron		105	39	7	Patron		105	37	7	Patron		106	5
8	Patron		105	40	8	Patron		105	46	8	Patron		106	4
9	Patron		105	38	9	Patron		105	49	9	Patron		106	2
10	Patron		105	37	10	Patron		105	48	10	Patron		106	5
11	Patron		105	41	11	Patron		105	31	11	Patron		106	6
12	Patron		105	43	12	Patron		105	39	12	Patron		106	4
13	Patron		105	46	13	Patron		105	32	13	Patron		106	3
14	Patron		105	39	14	Patron		105	37	14	Patron		106	2
15	Patron		105	42	15	Patron		105	31	15	Patron		106	3
16	Patron		105	40	16	Patron		105	43	16	Patron		106	4
17	Patron		105	44	17	Patron		105	49	17	Patron		106	2
18	Patron		105	43	18	Patron		105	31	18	Patron		106	4
19	Patron		105	40	19	Patron		105	46	19	Patron		106	2
20	Patron		105	41	20	Patron		105	31	20	Patron		106	5
21	Patron		105	46	21	Patron		105	32	21	Patron		106	3
22	Patron		105	39	22	Patron		105	44	22	Patron		106	4
23	Patron		105	36	23	Patron		105	40	23	Patron		106	3
24	Patron		105	41	24	Patron		105	41	24	Patron		106	4
25	Patron		105	37	25	Patron		105	43	25	Patron		106	6
26	Patron		105	40	26	Patron		105	41	26	Patron		106	4
27	Patron		105	39	27	Patron		105	43	27	Patron		106	2
28	Patron		105	46	28	Patron		105	46	28	Patron		106	4
29	Patron		105	31	29	Patron		105	39	29	Patron		106	7
30	Patron		105	38	30	Patron		105	42	30	Patron		106	4

Donde: $106 = 10^6$ y $105 = 10^5$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Exposición (3 horas) 50cm de alto y 0m de largo	101	310	1	Patron	Exposición (3 horas) 50cm de alto y 0m de largo	101	297	1	Patron	Exposición (3 horas) 50cm de alto y 0m de largo	101	318
2	Patron		101	309	2	Patron		101	301	2	Patron		101	306
3	Patron		101	290	3	Patron		101	309	3	Patron		101	296
4	Patron		101	306	4	Patron		101	296	4	Patron		101	282
5	Patron		101	298	5	Patron		101	300	5	Patron		101	310
6	Patron		101	291	6	Patron		101	299	6	Patron		101	300
7	Patron		101	300	7	Patron		101	306	7	Patron		101	286
8	Patron		101	306	8	Patron		101	301	8	Patron		101	299
9	Patron		101	303	9	Patron		101	299	9	Patron		101	304
10	Patron		101	306	10	Patron		101	297	10	Patron		101	306
11	Patron		101	296	11	Patron		101	294	11	Patron		101	299
12	Patron		101	300	12	Patron		101	306	12	Patron		101	300
13	Patron		101	301	13	Patron		101	290	13	Patron		101	294
14	Patron		101	296	14	Patron		101	310	14	Patron		101	295
15	Patron		101	297	15	Patron		101	311	15	Patron		101	305
16	Patron		101	300	16	Patron		101	289	16	Patron		101	308
17	Patron		101	291	17	Patron		101	300	17	Patron		101	299
18	Patron		101	299	18	Patron		101	296	18	Patron		101	300
19	Patron		101	304	19	Patron		101	309	19	Patron		101	303
20	Patron		101	300	20	Patron		101	295	20	Patron		101	296
21	Patron		101	301	21	Patron		101	305	21	Patron		101	309
22	Patron		101	296	22	Patron		101	306	22	Patron		101	291
23	Patron		101	301	23	Patron		101	298	23	Patron		101	300
24	Patron		101	293	24	Patron		101	294	24	Patron		101	304
25	Patron		101	306	25	Patron		101	304	25	Patron		101	301
26	Patron		101	300	26	Patron		101	301	26	Patron		101	290
27	Patron		101	299	27	Patron		101	296	27	Patron		101	303
28	Patron		101	304	28	Patron		101	300	28	Patron		101	292
29	Patron		101	296	29	Patron		101	295	29	Patron		101	304
30	Patron		101	301	30	Patron		101	296	30	Patron		101	300

Donde: $101 = 10^1$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Exposición (3 horas) 50cm de alto y 1m de largo	104	55	1	Patron	Exposición (3 horas) 50cm de alto y 1m de largo	104	54	1	Patron	Exposición (3 horas) 50cm de alto y 1m de largo	105	6
2	Patron		104	48	2	Patron		104	56	2	Patron		105	5
3	Patron		104	60	3	Patron		104	54	3	Patron		105	9
4	Patron		104	51	4	Patron		104	54	4	Patron		105	4
5	Patron		104	61	5	Patron		104	57	5	Patron		105	2
6	Patron		104	49	6	Patron		104	52	6	Patron		105	5
7	Patron		104	54	7	Patron		104	59	7	Patron		105	6
8	Patron		104	53	8	Patron		104	60	8	Patron		105	4
9	Patron		104	59	9	Patron		104	54	9	Patron		105	8
10	Patron		104	55	10	Patron		104	55	10	Patron		105	5
11	Patron		104	54	11	Patron		104	54	11	Patron		105	7
12	Patron		104	50	12	Patron		104	48	12	Patron		105	6
13	Patron		104	54	13	Patron		104	55	13	Patron		105	7
14	Patron		104	52	14	Patron		104	61	14	Patron		105	8
15	Patron		104	56	15	Patron		104	49	15	Patron		105	2
16	Patron		104	50	16	Patron		104	54	16	Patron		105	3
17	Patron		104	54	17	Patron		104	53	17	Patron		105	2
18	Patron		104	57	18	Patron		104	59	18	Patron		105	9
19	Patron		104	52	19	Patron		104	50	19	Patron		105	5
20	Patron		104	59	20	Patron		104	54	20	Patron		105	10
21	Patron		104	60	21	Patron		104	53	21	Patron		105	3
22	Patron		104	54	22	Patron		104	48	22	Patron		105	5
23	Patron		104	55	23	Patron		104	55	23	Patron		105	6
24	Patron		104	54	24	Patron		104	53	24	Patron		105	5
25	Patron		104	48	25	Patron		104	54	25	Patron		105	3
26	Patron		104	55	26	Patron		104	50	26	Patron		105	9
27	Patron		104	53	27	Patron		104	58	27	Patron		105	5
28	Patron		104	54	28	Patron		104	52	28	Patron		105	4
29	Patron		104	50	29	Patron		104	51	29	Patron		105	6
30	Patron		104	54	30	Patron		104	54	30	Patron		105	3

Donde: $104 = 10^4$ y $105 = 10^5$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN DISTANCIA														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Exposición (3 horas) 50cm de alto y 2m de largo	104	>1000000	1	Patron	Exposición (3 horas) 50cm de alto y 2m de largo	104	>1000000	1	Patron	Exposición (3 horas) 50cm de alto y 2m de largo	105	>1000000
2	Patron		104	>1000000	2	Patron		104	>1000000	2	Patron		105	>1000000
3	Patron		104	>1000000	3	Patron		104	>1000000	3	Patron		105	>1000000
4	Patron		104	>1000000	4	Patron		104	>1000000	4	Patron		105	>1000000
5	Patron		104	>1000000	5	Patron		104	>1000000	5	Patron		105	>1000000
6	Patron		104	>1000000	6	Patron		104	>1000000	6	Patron		105	>1000000
7	Patron		104	>1000000	7	Patron		104	>1000000	7	Patron		105	>1000000
8	Patron		104	>1000000	8	Patron		104	>1000000	8	Patron		105	>1000000
9	Patron		104	>1000000	9	Patron		104	>1000000	9	Patron		105	>1000000
10	Patron		104	>1000000	10	Patron		104	>1000000	10	Patron		105	>1000000
11	Patron		104	>1000000	11	Patron		104	>1000000	11	Patron		105	>1000000
12	Patron		104	>1000000	12	Patron		104	>1000000	12	Patron		105	>1000000
13	Patron		104	>1000000	13	Patron		104	>1000000	13	Patron		105	>1000000
14	Patron		104	>1000000	14	Patron		104	>1000000	14	Patron		105	>1000000
15	Patron		104	>1000000	15	Patron		104	>1000000	15	Patron		105	>1000000
16	Patron		104	>1000000	16	Patron		104	>1000000	16	Patron		105	>1000000
17	Patron		104	>1000000	17	Patron		104	>1000000	17	Patron		105	>1000000
18	Patron		104	>1000000	18	Patron		104	>1000000	18	Patron		105	>1000000
19	Patron		104	>1000000	19	Patron		104	>1000000	19	Patron		105	>1000000
20	Patron		104	>1000000	20	Patron		104	>1000000	20	Patron		105	>1000000
21	Patron		104	>1000000	21	Patron		104	>1000000	21	Patron		105	>1000000
22	Patron		104	>1000000	22	Patron		104	>1000000	22	Patron		105	>1000000
23	Patron		104	>1000000	23	Patron		104	>1000000	23	Patron		105	>1000000
24	Patron		104	>1000000	24	Patron		104	>1000000	24	Patron		105	>1000000
25	Patron		104	>1000000	25	Patron		104	>1000000	25	Patron		105	>1000000
26	Patron		104	>1000000	26	Patron		104	>1000000	26	Patron		105	>1000000
27	Patron		104	>1000000	27	Patron		104	>1000000	27	Patron		105	>1000000
28	Patron		104	>1000000	28	Patron		104	>1000000	28	Patron		105	>1000000
29	Patron		104	>1000000	29	Patron		104	>1000000	29	Patron		105	>1000000
30	Patron		104	>1000000	30	Patron		104	>1000000	30	Patron		105	>1000000

Donde: $104 = 10^4$

Resultados expresados en ufc/ml

Resultados obtenidos en el test de efectividad en el tiempo de la segunda parte de la prueba por muestra.- (Tabla 17 al 26)

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN EL TIEMPO (Fluorescente con 3 meses de antigüedad)														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Sin Exposición (0 horas)	107	97	1	Patron	Sin Exposición (0 horas)	107	99	1	Patron	Sin Exposición (0 horas)	108	9
2	Patron		107	96	2	Patron		107	96	2	Patron		108	10
3	Patron		107	100	3	Patron		107	97	3	Patron		108	8
4	Patron		107	99	4	Patron		107	98	4	Patron		108	11
5	Patron		107	94	5	Patron		107	93	5	Patron		108	7
6	Patron		107	90	6	Patron		107	92	6	Patron		108	9
7	Patron		107	102	7	Patron		107	99	7	Patron		108	9
8	Patron		107	96	8	Patron		107	91	8	Patron		108	9
9	Patron		107	97	9	Patron		107	95	9	Patron		108	10
10	Patron		107	95	10	Patron		107	100	10	Patron		108	10
11	Patron		107	93	11	Patron		107	88	11	Patron		108	9
12	Patron		107	98	12	Patron		107	102	12	Patron		108	8
13	Patron		107	94	13	Patron		107	96	13	Patron		108	9
14	Patron		107	96	14	Patron		107	97	14	Patron		108	9
15	Patron		107	97	15	Patron		107	95	15	Patron		108	10
16	Patron		107	99	16	Patron		107	98	16	Patron		108	9
17	Patron		107	94	17	Patron		107	96	17	Patron		108	11
18	Patron		107	97	18	Patron		107	97	18	Patron		108	9
19	Patron		107	93	19	Patron		107	94	19	Patron		108	10
20	Patron		107	91	20	Patron		107	95	20	Patron		108	8
21	Patron		107	98	21	Patron		107	96	21	Patron		108	9
22	Patron		107	99	22	Patron		107	97	22	Patron		108	11
23	Patron		107	96	23	Patron		107	100	23	Patron		108	8
24	Patron		107	97	24	Patron		107	99	24	Patron		108	9
25	Patron		107	97	25	Patron		107	90	25	Patron		108	10
26	Patron		107	96	26	Patron		107	99	26	Patron		108	9
27	Patron		107	96	27	Patron		107	102	27	Patron		108	10
28	Patron		107	97	28	Patron		107	95	28	Patron		108	9
29	Patron		107	98	29	Patron		107	97	29	Patron		108	11
30	Patron		107	97	30	Patron		107	96	30	Patron		108	9

Donde: $107 = 10^7$ y $108 = 10^8$.Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN EL TIEMPO (Fluorescente con 3 meses de antigüedad)														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Sin Exposición (3 horas)	108	104	1	Patron	Sin Exposición (3 horas)	108	96	1	Patron	Sin Exposición (3 horas)	108	99
2	Patron		108	107	2	Patron		108	98	2	Patron		108	100
3	Patron		108	94	3	Patron		108	99	3	Patron		108	106
4	Patron		108	99	4	Patron		108	106	4	Patron		108	94
5	Patron		108	104	5	Patron		108	107	5	Patron		108	93
6	Patron		108	105	6	Patron		108	99	6	Patron		108	106
7	Patron		108	102	7	Patron		108	108	7	Patron		108	99
8	Patron		108	97	8	Patron		108	93	8	Patron		108	102
9	Patron		108	100	9	Patron		108	104	9	Patron		108	91
10	Patron		108	99	10	Patron		108	99	10	Patron		108	93
11	Patron		108	104	11	Patron		108	109	11	Patron		108	103
12	Patron		108	100	12	Patron		108	99	12	Patron		108	99
13	Patron		108	103	13	Patron		108	104	13	Patron		108	100
14	Patron		108	99	14	Patron		108	103	14	Patron		108	101
15	Patron		108	97	15	Patron		108	94	15	Patron		108	98
16	Patron		108	96	16	Patron		108	99	16	Patron		108	104
17	Patron		108	105	17	Patron		108	104	17	Patron		108	106
18	Patron		108	102	18	Patron		108	99	18	Patron		108	99
19	Patron		108	94	19	Patron		108	104	19	Patron		108	91
20	Patron		108	106	20	Patron		108	99	20	Patron		108	90
21	Patron		108	103	21	Patron		108	98	21	Patron		108	103
22	Patron		108	99	22	Patron		108	100	22	Patron		108	100
23	Patron		108	96	23	Patron		108	91	23	Patron		108	95
24	Patron		108	102	24	Patron		108	96	24	Patron		108	99
25	Patron		108	97	25	Patron		108	109	25	Patron		108	109
26	Patron		108	106	26	Patron		108	91	26	Patron		108	107
27	Patron		108	99	27	Patron		108	99	27	Patron		108	99
28	Patron		108	100	28	Patron		108	100	28	Patron		108	106
29	Patron		108	92	29	Patron		108	99	29	Patron		108	109
30	Patron		108	98	30	Patron		108	103	30	Patron		108	108

Donde: $108 = 10^8$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN EL TIEMPO (Fluorescente con 3 meses de antigüedad)														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 0m de distancia (3 horas de exposición)	101	14	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 0m de distancia (3 horas de exposición)	101	17	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 0m de distancia (3 horas de exposición)	101	16
2	Patron		101	19	2	Patron		101	19	2	Patron		101	14
3	Patron		101	15	3	Patron		101	18	3	Patron		101	13
4	Patron		101	12	4	Patron		101	10	4	Patron		101	10
5	Patron		101	10	5	Patron		101	11	5	Patron		101	17
6	Patron		101	13	6	Patron		101	19	6	Patron		101	12
7	Patron		101	17	7	Patron		101	13	7	Patron		101	11
8	Patron		101	16	8	Patron		101	11	8	Patron		101	10
9	Patron		101	10	9	Patron		101	12	9	Patron		101	13
10	Patron		101	11	10	Patron		101	10	10	Patron		101	14
11	Patron		101	12	11	Patron		101	10	11	Patron		101	13
12	Patron		101	14	12	Patron		101	13	12	Patron		101	12
13	Patron		101	10	13	Patron		101	13	13	Patron		101	14
14	Patron		101	13	14	Patron		101	12	14	Patron		101	10
15	Patron		101	11	15	Patron		101	10	15	Patron		101	16
16	Patron		101	10	16	Patron		101	12	16	Patron		101	13
17	Patron		101	13	17	Patron		101	13	17	Patron		101	12
18	Patron		101	14	18	Patron		101	10	18	Patron		101	14
19	Patron		101	10	19	Patron		101	16	19	Patron		101	13
20	Patron		101	12	20	Patron		101	14	20	Patron		101	9
21	Patron		101	13	21	Patron		101	13	21	Patron		101	18
22	Patron		101	16	22	Patron		101	9	22	Patron		101	13
23	Patron		101	10	23	Patron		101	14	23	Patron		101	11
24	Patron		101	13	24	Patron		101	13	24	Patron		101	13
25	Patron		101	15	25	Patron		101	16	25	Patron		101	14
26	Patron		101	13	26	Patron		101	10	26	Patron		101	13
27	Patron		101	14	27	Patron		101	13	27	Patron		101	12
28	Patron		101	13	28	Patron		101	14	28	Patron		101	13
29	Patron		101	14	29	Patron		101	12	29	Patron		101	14
30	Patron		101	13	30	Patron		101	13	30	Patron		101	13

Donde: $101 = 10^1$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN EL TIEMPO (Fluorescente con 3 meses de antigüedad)														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 1m de distancia (3 horas de exposición)	105	31	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 1m de distancia (3 horas de exposición)	105	39	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 1m de distancia (3 horas de exposición)	106	3
2	Patron		105	34	2	Patron		105	30	2	Patron		106	5
3	Patron		105	30	3	Patron		105	30	3	Patron		106	7
4	Patron		105	29	4	Patron		105	28	4	Patron		106	4
5	Patron		105	30	5	Patron		105	33	5	Patron		106	1
6	Patron		105	32	6	Patron		105	36	6	Patron		106	2
7	Patron		105	28	7	Patron		105	27	7	Patron		106	5
8	Patron		105	30	8	Patron		105	30	8	Patron		106	3
9	Patron		105	26	9	Patron		105	29	9	Patron		106	3
10	Patron		105	25	10	Patron		105	32	10	Patron		106	1
11	Patron		105	37	11	Patron		105	33	11	Patron		106	3
12	Patron		105	30	12	Patron		105	28	12	Patron		106	5
13	Patron		105	29	13	Patron		105	27	13	Patron		106	6
14	Patron		105	31	14	Patron		105	36	14	Patron		106	3
15	Patron		105	30	15	Patron		105	21	15	Patron		106	2
16	Patron		105	28	16	Patron		105	30	16	Patron		106	3
17	Patron		105	29	17	Patron		105	26	17	Patron		106	3
18	Patron		105	31	18	Patron		105	33	18	Patron		106	2
19	Patron		105	30	19	Patron		105	34	19	Patron		106	5
20	Patron		105	30	20	Patron		105	28	20	Patron		106	3
21	Patron		105	28	21	Patron		105	27	21	Patron		106	1
22	Patron		105	32	22	Patron		105	30	22	Patron		106	3
23	Patron		105	39	23	Patron		105	31	23	Patron		106	3
24	Patron		105	21	24	Patron		105	29	24	Patron		106	2
25	Patron		105	30	25	Patron		105	30	25	Patron		106	2
26	Patron		105	29	26	Patron		105	26	26	Patron		106	3
27	Patron		105	31	27	Patron		105	30	27	Patron		106	1
28	Patron		105	30	28	Patron		105	29	28	Patron		106	3
29	Patron		105	29	29	Patron		105	26	29	Patron		106	1
30	Patron		105	31	30	Patron		105	32	30	Patron		106	2

Donde: $105 = 10^5$ y $106 = 10^6$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN EL TIEMPO (Fluorescente con 3 meses de antigüedad)														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 2m de distancia (3 horas de exposición)	105	33	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 2m de distancia (3 horas de exposición)	105	36	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 2m de distancia (3 horas de exposición)	106	3
2	Patron		105	35	2	Patron		105	30	2	Patron		106	7
3	Patron		105	39	3	Patron		105	46	3	Patron		106	6
4	Patron		105	40	4	Patron		105	28	4	Patron		106	5
5	Patron		105	31	5	Patron		105	27	5	Patron		106	1
6	Patron		105	29	6	Patron		105	39	6	Patron		106	3
7	Patron		105	33	7	Patron		105	30	7	Patron		106	2
8	Patron		105	32	8	Patron		105	33	8	Patron		106	4
9	Patron		105	33	9	Patron		105	31	9	Patron		106	6
10	Patron		105	36	10	Patron		105	30	10	Patron		106	3
11	Patron		105	31	11	Patron		105	33	11	Patron		106	3
12	Patron		105	30	12	Patron		105	30	12	Patron		106	5
13	Patron		105	30	13	Patron		105	33	13	Patron		106	3
14	Patron		105	33	14	Patron		105	32	14	Patron		106	2
15	Patron		105	34	15	Patron		105	31	15	Patron		106	1
16	Patron		105	32	16	Patron		105	33	16	Patron		106	3
17	Patron		105	31	17	Patron		105	30	17	Patron		106	3
18	Patron		105	30	18	Patron		105	30	18	Patron		106	4
19	Patron		105	31	19	Patron		105	31	19	Patron		106	1
20	Patron		105	33	20	Patron		105	30	20	Patron		106	3
21	Patron		105	35	21	Patron		105	29	21	Patron		106	2
22	Patron		105	30	22	Patron		105	32	22	Patron		106	1
23	Patron		105	32	23	Patron		105	29	23	Patron		106	3
24	Patron		105	33	24	Patron		105	30	24	Patron		106	4
25	Patron		105	30	25	Patron		105	32	25	Patron		106	2
26	Patron		105	32	26	Patron		105	33	26	Patron		106	1
27	Patron		105	31	27	Patron		105	38	27	Patron		106	3
28	Patron		105	31	28	Patron		105	36	28	Patron		106	5
29	Patron		105	29	29	Patron		105	32	29	Patron		106	2
30	Patron		105	30	30	Patron		105	35	30	Patron		106	6

Donde: $105 = 10^5$ y $106 = 10^6$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN EL TIEMPO (Fluorescente con 4 meses de antigüedad)														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Sin Exposición (0 horas)	107	43	1	Patron	Sin Exposición (0 horas)	107	31	1	Patron	Sin Exposición (0 horas)	108	3
2	Patron		107	45	2	Patron		107	43	2	Patron		108	7
3	Patron		107	49	3	Patron		107	46	3	Patron		108	6
4	Patron		107	41	4	Patron		107	46	4	Patron		108	5
5	Patron		107	50	5	Patron		107	42	5	Patron		108	3
6	Patron		107	39	6	Patron		107	41	6	Patron		108	5
7	Patron		107	41	7	Patron		107	40	7	Patron		108	6
8	Patron		107	40	8	Patron		107	39	8	Patron		108	4
9	Patron		107	41	9	Patron		107	37	9	Patron		108	3
10	Patron		107	43	10	Patron		107	38	10	Patron		108	3
11	Patron		107	46	11	Patron		107	48	11	Patron		108	4
12	Patron		107	43	12	Patron		107	36	12	Patron		108	5
13	Patron		107	47	13	Patron		107	39	13	Patron		108	9
14	Patron		107	44	14	Patron		107	49	14	Patron		108	2
15	Patron		107	41	15	Patron		107	49	15	Patron		108	4
16	Patron		107	41	16	Patron		107	44	16	Patron		108	3
17	Patron		107	43	17	Patron		107	43	17	Patron		108	3
18	Patron		107	41	18	Patron		107	44	18	Patron		108	4
19	Patron		107	43	19	Patron		107	32	19	Patron		108	6
20	Patron		107	42	20	Patron		107	42	20	Patron		108	3
21	Patron		107	43	21	Patron		107	42	21	Patron		108	6
22	Patron		107	41	22	Patron		107	45	22	Patron		108	4
23	Patron		107	43	23	Patron		107	43	23	Patron		108	3
24	Patron		107	45	24	Patron		107	49	24	Patron		108	4
25	Patron		107	41	25	Patron		107	48	25	Patron		108	2
26	Patron		107	43	26	Patron		107	42	26	Patron		108	4
27	Patron		107	41	27	Patron		107	49	27	Patron		108	3
28	Patron		107	43	28	Patron		107	43	28	Patron		108	5
29	Patron		107	44	29	Patron		107	51	29	Patron		108	4
30	Patron		107	43	30	Patron		107	49	30	Patron		108	6

Donde: $107 = 10^7$ y $108 = 10^8$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN EL TIEMPO (Fluorescente con 4 meses de antigüedad)														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	Sin Exposición (3 horas)	108	520	1	Patron	Sin Exposición (3 horas)	108	510	1	Patron	Sin Exposición (3 horas)	109	52
2	Patron		108	540	2	Patron		108	524	2	Patron		109	53
3	Patron		108	539	3	Patron		108	580	3	Patron		109	56
4	Patron		108	523	4	Patron		108	523	4	Patron		109	57
5	Patron		108	524	5	Patron		108	523	5	Patron		109	51
6	Patron		108	500	6	Patron		108	512	6	Patron		109	50
7	Patron		108	540	7	Patron		108	510	7	Patron		109	49
8	Patron		108	521	8	Patron		108	516	8	Patron		109	51
9	Patron		108	520	9	Patron		108	520	9	Patron		109	53
10	Patron		108	523	10	Patron		108	523	10	Patron		109	52
11	Patron		108	540	11	Patron		108	502	11	Patron		109	56
12	Patron		108	510	12	Patron		108	524	12	Patron		109	51
13	Patron		108	523	13	Patron		108	523	13	Patron		109	50
14	Patron		108	528	14	Patron		108	524	14	Patron		109	56
15	Patron		108	526	15	Patron		108	510	15	Patron		109	54
16	Patron		108	524	16	Patron		108	520	16	Patron		109	56
17	Patron		108	525	17	Patron		108	520	17	Patron		109	50
18	Patron		108	522	18	Patron		108	523	18	Patron		109	52
19	Patron		108	523	19	Patron		108	540	19	Patron		109	54
20	Patron		108	525	20	Patron		108	523	20	Patron		109	60
21	Patron		108	523	21	Patron		108	506	21	Patron		109	49
22	Patron		108	528	22	Patron		108	521	22	Patron		109	53
23	Patron		108	521	23	Patron		108	523	23	Patron		109	48
24	Patron		108	510	24	Patron		108	528	24	Patron		109	52
25	Patron		108	523	25	Patron		108	520	25	Patron		109	48
26	Patron		108	523	26	Patron		108	523	26	Patron		109	52
27	Patron		108	520	27	Patron		108	530	27	Patron		109	49
28	Patron		108	510	28	Patron		108	523	28	Patron		109	52
29	Patron		108	520	29	Patron		108	534	29	Patron		109	51
30	Patron		108	516	30	Patron		108	532	30	Patron		109	52

Donde: $108 = 10^8$ y $109 = 10^9$

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN EL TIEMPO (Fluorescente con 4 meses de antigüedad)														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 0m de distancia (3 horas de exposición)	101	54	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 0m de distancia (3 horas de exposición)	101	60	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 0m de distancia (3 horas de exposición)	101	60
2	Patron		101	55	2	Patron		101	52	2	Patron		101	58
3	Patron		101	51	3	Patron		101	55	3	Patron		101	50
4	Patron		101	56	4	Patron		101	53	4	Patron		101	53
5	Patron		101	54	5	Patron		101	54	5	Patron		101	59
6	Patron		101	53	6	Patron		101	60	6	Patron		101	54
7	Patron		101	52	7	Patron		101	58	7	Patron		101	52
8	Patron		101	51	8	Patron		101	50	8	Patron		101	52
9	Patron		101	50	9	Patron		101	53	9	Patron		101	53
10	Patron		101	60	10	Patron		101	51	10	Patron		101	54
11	Patron		101	53	11	Patron		101	54	11	Patron		101	60
12	Patron		101	52	12	Patron		101	52	12	Patron		101	54
13	Patron		101	54	13	Patron		101	58	13	Patron		101	55
14	Patron		101	53	14	Patron		101	59	14	Patron		101	57
15	Patron		101	52	15	Patron		101	60	15	Patron		101	51
16	Patron		101	56	16	Patron		101	57	16	Patron		101	50
17	Patron		101	54	17	Patron		101	53	17	Patron		101	56
18	Patron		101	53	18	Patron		101	54	18	Patron		101	52
19	Patron		101	52	19	Patron		101	54	19	Patron		101	53
20	Patron		101	55	20	Patron		101	52	20	Patron		101	47
21	Patron		101	56	21	Patron		101	53	21	Patron		101	59
22	Patron		101	50	22	Patron		101	50	22	Patron		101	56
23	Patron		101	52	23	Patron		101	53	23	Patron		101	60
24	Patron		101	58	24	Patron		101	56	24	Patron		101	50
25	Patron		101	53	25	Patron		101	50	25	Patron		101	58
26	Patron		101	56	26	Patron		101	50	26	Patron		101	51
27	Patron		101	57	27	Patron		101	53	27	Patron		101	52
28	Patron		101	59	28	Patron		101	54	28	Patron		101	56
29	Patron		101	60	29	Patron		101	54	29	Patron		101	53
30	Patron		101	58	30	Patron		101	57	30	Patron		101	54

Donde: 101 = 10¹

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN EL TIEMPO (Fluorescente con 4 meses de antigüedad)														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 1m de distancia (3 horas de exposición)	105	55	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 1m de distancia (3 horas de exposición)	105	60	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 1m de distancia (3 horas de exposición)	106	5
2	Patron		105	60	2	Patron		105	62	2	Patron		106	5
3	Patron		105	58	3	Patron		105	63	3	Patron		106	5
4	Patron		105	51	4	Patron		105	59	4	Patron		106	5
5	Patron		105	52	5	Patron		105	50	5	Patron		106	6
6	Patron		105	57	6	Patron		105	48	6	Patron		106	2
7	Patron		105	59	7	Patron		105	55	7	Patron		106	6
8	Patron		105	53	8	Patron		105	52	8	Patron		106	8
9	Patron		105	56	9	Patron		105	53	9	Patron		106	8
10	Patron		105	54	10	Patron		105	55	10	Patron		106	5
11	Patron		105	55	11	Patron		105	55	11	Patron		106	6
12	Patron		105	60	12	Patron		105	60	12	Patron		106	6
13	Patron		105	53	13	Patron		105	55	13	Patron		106	9
14	Patron		105	54	14	Patron		105	54	14	Patron		106	5
15	Patron		105	56	15	Patron		105	54	15	Patron		106	7
16	Patron		105	59	16	Patron		105	54	16	Patron		106	5
17	Patron		105	54	17	Patron		105	54	17	Patron		106	6
18	Patron		105	52	18	Patron		105	55	18	Patron		106	5
19	Patron		105	56	19	Patron		105	60	19	Patron		106	5
20	Patron		105	50	20	Patron		105	55	20	Patron		106	3
21	Patron		105	54	21	Patron		105	58	21	Patron		106	5
22	Patron		105	56	22	Patron		105	55	22	Patron		106	5
23	Patron		105	56	23	Patron		105	52	23	Patron		106	6
24	Patron		105	55	24	Patron		105	51	24	Patron		106	6
25	Patron		105	55	25	Patron		105	50	25	Patron		106	5
26	Patron		105	54	26	Patron		105	55	26	Patron		106	5
27	Patron		105	50	27	Patron		105	59	27	Patron		106	5
28	Patron		105	60	28	Patron		105	53	28	Patron		106	5
29	Patron		105	58	29	Patron		105	60	29	Patron		106	4
30	Patron		105	60	30	Patron		105	56	30	Patron		106	4

Donde: 105 = 10^5 y 106 = 10^6

Resultados expresados en ufc/ml

PRUEBA DE EFECTIVIDAD EN EL TIEMPO (Fluorescente con 4 meses de antigüedad)														
No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados	No	Muestra	Exposicion a UV	Dilución	Resultados
1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 2m de distancia (3 horas de exposición)	105	540	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 2m de distancia (3 horas de exposición)	105	510	1	Patron	A 25cm de altura del fluorescente y a 2m de distancia (3 horas de exposición)	106	54
2	Patron		105	558	2	Patron		105	550	2	Patron		106	60
3	Patron		105	520	3	Patron		105	530	3	Patron		106	53
4	Patron		105	530	4	Patron		105	540	4	Patron		106	51
5	Patron		105	589	5	Patron		105	560	5	Patron		106	54
6	Patron		105	513	6	Patron		105	523	6	Patron		106	52
7	Patron		105	530	7	Patron		105	534	7	Patron		106	53
8	Patron		105	540	8	Patron		105	515	8	Patron		106	51
9	Patron		105	560	9	Patron		105	528	9	Patron		106	53
10	Patron		105	530	10	Patron		105	589	10	Patron		106	50
11	Patron		105	521	11	Patron		105	511	11	Patron		106	54
12	Patron		105	523	12	Patron		105	543	12	Patron		106	56
13	Patron		105	538	13	Patron		105	560	13	Patron		106	52
14	Patron		105	537	14	Patron		105	540	14	Patron		106	53
15	Patron		105	561	15	Patron		105	531	15	Patron		106	50
16	Patron		105	541	16	Patron		105	532	16	Patron		106	54
17	Patron		105	540	17	Patron		105	541	17	Patron		106	56
18	Patron		105	523	18	Patron		105	521	18	Patron		106	53
19	Patron		105	536	19	Patron		105	587	19	Patron		106	50
20	Patron		105	521	20	Patron		105	540	20	Patron		106	49
21	Patron		105	531	21	Patron		105	547	21	Patron		106	60
22	Patron		105	511	22	Patron		105	550	22	Patron		106	44
23	Patron		105	510	23	Patron		105	501	23	Patron		106	58
24	Patron		105	512	24	Patron		105	521	24	Patron		106	60
25	Patron		105	520	25	Patron		105	503	25	Patron		106	52
26	Patron		105	521	26	Patron		105	501	26	Patron		106	51
27	Patron		105	509	27	Patron		105	530	27	Patron		106	53
28	Patron		105	530	28	Patron		105	509	28	Patron		106	53
29	Patron		105	510	29	Patron		105	503	29	Patron		106	56
30	Patron		105	549	30	Patron		105	504	30	Patron		106	51

Donde: 105 = 10^5 y 106 = 10^6

Resultados expresados en ufc/ml

IV. DISCUSION.-

En el presente trabajo se aplicó la rigurosidad científica en las metodologías de análisis y preparación de muestras siendo de vital importancia la clasificación de los microorganismos a trabajar por lo que la prueba fue realizada a partir de un compósito bacteriano obtenido de la superficie de los tanques de Moromi y de ahí se seleccionó al tipo de microorganismo que se presentaba con mayor incidencia en las placas (la morfología de las colonias son similares) y colocándolo en un medio de mantenimiento como lo es la solución salina fisiológica se sembró y cultivo para obtener evidencias más claras de la acción de la luz ultravioleta sobre dichos microorganismos. Siendo el objetivo de la presente averiguar el efecto de la luz ultravioleta sobre los microorganismos del medio ambiente que se encuentran sobre los tanques de Moromi; no se realizó la prueba con muestras de Moromi directamente ya que el crecimiento de hongos no permitiría observar los efectos de la luz ultravioleta sobre los microorganismos.

Era necesario determinar el período de vida útil (de acuerdo a los estándares establecidos en planta de producción) de las lámparas de luz UV ya que, de acuerdo a lo indicado por el proveedor, la efectividad (el efecto germicida) va disminuyendo de acuerdo al número de horas de encendido. En la actualidad la disminución de la carga bacteriana debe ser mayor o igual al 90% respecto a la carga total y ello se obtiene con lámparas de no más de tres meses de antigüedad tal y como se observó en la prueba de efectividad en el tiempo.

Del mismo modo, el estudio de efectividad en distancia nos demarcó el espacio promedio de cobertura de una lámpara de luz UV promedio (de tamaño y potencia estándar de acuerdo al mercado de oferta de dichas lámparas) y los resultados también nos servirán para diseñar ampliaciones y/o modificaciones futuras en la planta de producción de sillao.

Queda pendiente para continuar estudiando la prueba del efecto de un sillao producido con Moromi sin exposición a la luz UV versus uno con exposición (evaluar parámetros de calidad de producto terminado y sobre todo características sensoriales como olor, color y sabor). En el presente estudio esto no es posible debido a que se trata de un producto que saldrá a la venta para consumo humano y que no puede ser alterado en su proceso normal de preparación, así mismo ello implicaría gasto de dinero y recursos

sobre condiciones que no se van a llevar a cabo en la práctica en ningún momento debido a que la empresa se rige bajo normas y parámetros de calidad establecidos dentro del marco de los convenios corporativos y las normas HACCP, ISO 9001, ISO 18000 E ISO 14000.

La prueba se llevó a cabo suponiendo un medio estático, condición que no es llevada a cabo en la práctica ya que los tanques de Moromi se agitan cada tres meses para favorecer el proceso de fermentación fúngica. Sin embargo debido a que el tiempo de residencia del Moromi (proceso fermentativo) es de 6 meses, se consideró que la variación es mínima con respecto a la prueba.

El cálculo de los resultados obtenidos se realizó por simple promedio aritmético debido a que no se requiere la precisión de la estadística no paramétrica ya que el producto final (sillao) cuenta con un proceso de pasteurización y atraviesa un proceso de regulación de pH y la adición de un preservante que nos asegura la inocuidad del mismo. Del mismo modo, al estar supeditados, como empresa, a convenios corporativos cumplimos con estándares de calidad más rigurosos que la Norma Técnica Peruana (NTP 209.227.1984) que establece que el conteo total en placa de una salsa de soya tipo sillao (también denominadas siyau, sillau, siyao en esta norma) será menor o igual a 10000ufc/ml. En el caso de la planta productora de sillao el parámetro que se considera es de no más de 1000 ufc/ml para el producto envasado. Y es debido a que nuestro estándar de calidad nos exige una disminución de carga bacteriana 10 veces mayor a la Norma Técnica Peruana es que se incluyen controles adicionales en el proceso productivo como los arriba mencionados además del control del proceso de fermentación con lámparas de luz ultravioleta.

V. CONCLUSIONES.-

- a) El efecto germicida de la luz ultravioleta esta ampliamente demostrado por lo que el uso inadecuado de las lámparas puede traer consigo la disminución de dicho efecto germicida.
- b) Las lámparas de luz ultravioleta tienen una eficiencia bactericida del 90% o más para un tiempo de vida útil de tres meses.

- c) El uso de lámparas de luz ultravioleta de tamaño estándar sobre elementos líquidos con cierto nivel de turbidez por un tiempo de exposición de tres horas logra la reducción total de la carga bacteriana.
- d) Las lámparas de luz ultravioleta de tamaño estándar sobre elementos líquidos con cierto nivel de turbidez deben encontrarse a una distancia no mayor de dos metros para que la disminución de la carga bacteriana sea la mayor posible.

Recomendaciones:

- a) Cambiar las actuales condiciones de uso de las lámparas UV en la planta de Sillao de acuerdo a los resultados obtenidos en la presente prueba a fin de optimizar el proceso productivo y eliminar la posibilidad de problemas dentro del proceso fermentativo.
- b) Cambiar las lámparas de luz ultravioleta en planta de tal manera que ninguna tenga mas de tres meses de antigüedad para que la reducción de la carga microbiana sobre la superficie de los tanques de Moromi sea del 90% a más.

VI. BIBLIOGRAFÍA.-

- 1.- ICMSF, “Ecología Microbiana de los Alimentos”. Vol. 1, Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1980.
- 2.- Crueger W, Crueger A. “Biotecnología Manual de microbiología industrial”. Editorial Acribia S.A., Zaragoza, España, 1993.
- 3.- Madignan M, Martinko J, Parker J. “Brock Biología de los microorganismos”. 10ma Edición. Editorial Prentice Hall S.A., Zaragoza, España, 1993.
4. - APHA “Compendium for the Microbiological Examination of Food”. EPS Group, Inc., Hanover MD. 3ra Edición. Washington D.C. USA. 1992.
- 5.- Moreno M. “TOXICOLOGIA AMBIENTAL. Evaluación de riesgo para la salud humana”. Mc Graw-Hill Interamericana. 1ra Edición. Madrid, España. 2003.
- 6.- Society for Industrial Microbiology. “Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology” Vol. 33 Number 9 September 2006. Springer Editorial. Boston, USA 2006.
- 7.- Society for Industrial Microbiology. “Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology” Vol. 35 Number 2 February 2008. Springer - Editorial. Boston, USA. 2008.
- 8.- Society for Industrial Microbiology. “Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology” Vol. 32 Number 4 April 2005. Springer - Editorial. Boston, USA. 2005.

9.- Society for Industrial Microbiology. "Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology" Vol. 32 Number 3 March 2005. Springer - Editorial. Boston, USA. 2005.

10.- Cheung Lok Man. CON: Investigation of virus Inactivation and By-products Formation under Sequential Disinfection using UV Irradiation and Free Chlorine/Monochloramine (In Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Philosophy in Department of Civil Engineering). Hong Kong: The Hong Kong University of Science and Technology, August 2004
<http://lbxml.ust.hk/th_imgo/b836778.pdf> (consulta: 28 de Diciembre 2008)

11.- Guo Liu. CON: An investigation of UV performance under the influence of Turbidity & particulates for drinking water applications (In fulfillment of the requeriment for the degree of Master of Applied Science in Civil Engineering). Waterloo, Ontario, Canada: University of Waterloo, 2005
<<http://uwspace.uwaterloo.ca/bitstream/10012/823/1/g9liu2005.pdf> > (consulta: 15 de Diciembre del 2008)

12.- Gaurav Savant. CON: Combined Ozone and Ultraviolet Inactivation of *Escherichia coli* (In partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science in civil Engenieering). Mississippi, United States: Mississippi State University, August 2003 <http://sun.library.msstate.edu/ETD-db/theses/available/etd-07072003-191650/unrestricted/Savant_Thesis.pdf> (consulta: 30 de Setiembre del 2008)

13.- Havel Timothy Joseph. CON: Ultravioleta Disinfection of Synthectic Metalworking fluid Contaminated with *Bacillus subtilis* (In partial fulfillment of requierements for the degree of Master of Science). Oklahoma, United States: University of Oklahoma Health Sciences Center Graduate College, 2002
<<http://library.ouhsc.edu/epub/theses/Havel-Timothy-Joseph.pdf> > (consulta: 30 de Setiembre del 2008)

IX. ANEXOS

- 1.- copia del PDP
- 2.- Copia del TECH